

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Actividad antioxidante y composición de ácidos grasos,
tocoferoles y tocotrienoles en tres variedades de
Chenopodium quinoa Willdenow y elaboración de una
crema dermocosmética antienvjecimiento**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Mery Milagros CUEVAS ESPINAL

Natividad Roxana LOZANO JULIÁN

ASESOR

Américo Jorge CASTRO LUNA

Lima - Perú

2017



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

"Actividad antioxidante y composición de ácidos grasos, tocoferoles y tocotrienoles en tres variedades de *Chenopodium quinoa Willdenow* y elaboración de una crema dermocosmética antienvjecimiento"

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

**NATIVIDAD ROXANA LOZANO JULIÁN Y
MERY MILAGROS CUEVAS ESPINAL**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

CON MENCIÓN 19

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 19 de octubre de 2017.

Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera
Presidente

Dra. Yadira Fernández Jeri
Miembro

Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar
Miembro

Q.F. Walter Rivas Altez
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú
Teléfonos: (511) 328-4737 / (511) 679-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía, apoyo y motivación para realizar todo lo que me propuse.

A mis padres Dante e Hidelisa, por su comprensión, confianza, amor, apoyo incondicional a lo largo de mi vida y por educarme con valores para tener un buen desarrollo personal y académico.

A mi hermana Pilar, por ser mi ejemplo a seguir y por brindarme sabios consejos en los momentos más complicados.

A mis hermanos por su constante apoyo.

A Park Jung Min por ser mi motivación en la elaboración de la tesis.

Mery Milagros Cuevas Espinal

DEDICATORIA

Al Todopoderoso, a la Virgen de Lourdes y a mi hermana Nancy
porque son mi soporte emocional y de vida.

A mi madre Cena Julián por ser mi fuerza, mi apoyo, mi motivación
y mi maestra más importante.

A mis hermanos Liliam, Nilton, Elvis, Ronald, Roger y Liset por la
confianza, comprensión y apoyo incondicional.

A mis profesores por brindarme confianza en cada paso a seguir y
por transmitirme lo más preciado, sus conocimientos.

Natividad Roxana Lozano Julián

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Américo Castro Luna, asesor de la presente tesis, por confiar en nuestras capacidades, brindarnos su apoyo y orientación profesional.

A los distinguidos Miembros del Jurado Examinador y Calificador: Dr. Pablo Bonilla Rivera, Dra. Yadira Fernández Jerí, Mg. Carmen Peña Suasnabar y Q.F. Walter Rivas Altez por sus observaciones y sugerencias en la revisión del presente trabajo.

A los Ingenieros A. Salas y E. Arpi del Instituto Tecnológico de la Producción por su colaboración y confianza.

Al Instituto de la Grasa - CSIC de la Universidad Pablo de Olavide, por su apoyo.

A los docentes Pool Gutierrez y Elizabeth Gonzales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por compartir sus conocimientos y sugerencias.

Al Dr. Ernesto Raéz del Instituto de Patología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por su apoyo incondicional en los análisis realizados.

A la Ing. Nancy Chasquibol por sus sugerencias en algunos análisis.

A la Dra. Silvia Suárez Cunza por compartir valiosos conocimientos y sugerencias.

A los analistas del Centro de Control Analítico (CCA) por su confianza y apoyo.

A los asistentes del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales por su apoyo y tiempo.

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo primordial extraer los aceites de tres variedades de *Chenopodium quinoa Willd.* (quinua blanca, roja y negra) y analizar su efecto antioxidante por los métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS^{•+}), *in vitro*. Posterior a la extracción elaborar una crema dermocosmética con los aceites y comprobar su efecto antienvjecimiento, envejecimiento provocado por la radiación UVA y UVB, *in vivo*. Los aceites extraídos fueron analizados por Cromatografía de Gases (CG) y Cromatografía Líquida de Alta Presión y Polaridad (HPLC) para determinar ácidos grasos y tocoferoles/tocotrienoles respectivamente. En el análisis por DPPH, los aceites mostraron una actividad antioxidante con IC₅₀ de 3 587; 2 576 y 3 316 µg/mL para quinua blanca, roja y negra respectivamente; en el análisis por ABTS^{•+} se obtuvo el valor TEAC 28,362; 29,176 y 31,351 mg Trolox/g muestra para quinua blanca, roja y negra respectivamente. Se elaboraron las cremas dermocosméticas antienvjecimiento a tres concentraciones (3, 6 y 9 %) con cada tipo de aceite y se evaluaron los aspectos fisicoquímicos y microbiológicos. La piel de los ratones fue evaluada de forma histológica, *in vivo*, para comprobar el efecto antienvjecimiento. Se concluye que la crema con aceite de quinua roja presentó mejor efecto antienvjecimiento, seguida de la quinua negra y blanca, además este efecto mejora conforme se aumenta la concentración del aceite en la crema.

Palabras clave: tocoferoles, tocotrienoles, actividad antioxidante, antienvjecimiento.

SUMMARY

This research had as main objective to extract the oils of three varieties of *Chenopodium quinoa Willd.* (white, red and black quinoa) and analyze it is *in vitro* antioxidant effect (by the methods 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil (DPPH) and 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS^{•+})). After the extraction, a dermocosmetic cream was made using these oils in order to prove its anti-aging effect, agin caused by UVA and UVB radiation, *in vivo*. The extracted oils were analyzed by Gas Chromatography (GC) and High Pressure and Polarity Liquid Chromatography (HPLC) to determine fatty acids and tocopherols/tocotrienols, respectively. In the analysis by DPPH, the oils showed an antioxidant activity with IC₅₀ 3 587; 2 576 and 3 316 µg/mL for white, red and black quinoa respectively; In the analysis by ABTS^{•+} showed the value of TEAC 28,362; 29,176 y 31,351 mg Trolox/g oil for white, red and black quinoa respectively. Anti-aging dermocosmetic creams were made at three concentrations of 3, 6 and 9% for each type of oil and the physiochemical, microbiological aspects were evaluated. The skin of the mice was evaluated histologically, *in vivo*, to verify the anti-aging effect. It was concluded that the cream made with red quinoa oil had a better anti-aging effect, followed by black and white quinoa, also this effect improves as the oil concentration in the cream increases.

Key words: tocopherols, tocotrienols, antioxidant activity, anti-aging.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	V
SUMMARY	VI
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo general	3
1.2. Objetivos específicos	3
1.3. Hipótesis	3
II. GENERALIDADES	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Aspecto botánico	9
2.2.1. Clasificación taxonómica	9
2.2.2. Descripción morfológica	11
2.2.3. Hábitat y distribución geográfica	14
2.2.4. Usos y aplicaciones	15
2.3. Aspecto químico	16
2.3.1. Composición química de semillas de quinua	16
2.3.2. Lípidos	21
2.3.3. Vitamina E	25
2.4. Antioxidantes y radicales libres	31
2.5. Piel y fotoenvejecimiento	35
2.5.1. Estructura de la piel	35
2.5.2. Distribución de antioxidantes en la piel	37

2.5.3. Fotoenvejecimiento de la piel	38
2.6. Crema dermocosmética.....	40
2.7. Estudios de estabilidad.....	42
2.7.1. Estabilidad preliminar	43
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	44
3.1. Tipo de Investigación.....	44
3.2. Diseño del trabajo experimental	44
3.3. Materiales	45
3.4. Métodos.....	46
3.4.1. Extracción de los aceites de quinua.....	46
3.4.2. Ensayos preliminares	47
3.4.3. Identificación y cuantificación de ácidos grasos en los aceites de quinua	48
3.4.4. Identificación y cuantificación de tocoferoles y tocotrienoles en los aceites de quinua.....	48
3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante de los aceites de quinua	50
3.5. Elaboración de las cremas dermocosméticas	53
3.6. Estudio de estabilidad de las cremas dermocosméticas	54
3.7. Ensayo antienvjecimiento de las cremas dermocosméticas.....	57
3.8. Análisis estadístico	58
IV. RESULTADOS	59
4.1. Extracciones de los aceites de quinua	59
4.2. Ensayos preliminares	59

4.3.	Ácidos grasos en los aceites de quinua	60
4.4.	Tocoferoles y tocotrienoles en los aceites de quinua	61
4.5.	Actividad antioxidante de los aceites de quinua	62
4.5.1.	DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	62
4.5.2.	ABTS ^{•+} (Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico)	65
4.6.	Estabilidad preliminar de las cremas dermocosméticas	68
4.7.	Determinación del efecto antienvjecimiento	70
V.	DISCUSIONES	72
VI.	CONCLUSIONES	82
VII.	RECOMENDACIONES	83
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
IX.	ANEXOS	97

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ácidos grasos saturados.

Tabla 2. Ácidos grasos insaturados.

Tabla 3. Elaboración de las cremas dermocosméticas con aceites de quinua.

Tabla 4. Condiciones de temperatura a las que se sometieron las cremas y periodo de evaluación para la estabilidad preliminar.

Tabla 5. Grupos de distribución de las muestras para la evaluación antienvjecimiento.

Tabla 6. Rendimiento de los aceites de quinua por el método de Soxhlet.

Tabla 7. Rendimiento de los aceite de quinua por el método de Bligh and Dyer.

Tabla 8. Prueba de solubilidad del aceite de quinua.

Tabla 9. Porcentaje de ácidos grasos en los aceites de quinua analizados por cromatografía de gases.

Tabla 10. Tocoferoles en los aceites de quinua analizados por HPLC.

Tabla 11. Tocotrienoles en los aceites de quinua analizados por HPLC.

Tabla 12. Resultados de la actividad antioxidante de los aceites de quinua y Trolox por el método de DPPH.

Tabla 13. Resultados de la actividad antioxidante de los aceite de quinua y Trolox por el método ABTS^{•+}.

Tabla 14. Resultados de la estabilidad preliminar de las cremas dermocosméticas a 5 ± 2 °C, 40 ± 2 °C y en ciclos de 24 horas (40 ± 2 y 4 ± 2 °C).

Tabla 15. Análisis microbiológico de las cremas antienvjecimiento con aceites de quinua.

Tabla 16. Análisis histológico de la piel de ratón.

Tabla 17. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método DPPH del aceite quinua blanca.

Tabla 18. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método DPPH del aceite de quinua roja.

Tabla 19. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método DPPH del aceite de quinua negra.

Tabla 20. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método ABTS^{•+} del aceite de quinua blanca.

Tabla 21. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método ABTS^{•+} del aceite de quinua roja.

Tabla 22. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método ABTS^{•+} del aceite de quinua negra.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Raíz y tallo de la quinua.

Figura 2. Hojas e inflorescencia de quinua.

Figura 3. Flores y semillas de la quinua.

Figura 4. Estructura básica del ácido graso.

Figura 5. Estructura básica de los tocoferoles y tocotrienoles.

Figura 6. Mecanismo biosintético de α -tocoferol y α -tocotrienol.

Figura 7. Reducción del oxígeno.

Figura 8. Estructura de la piel.

Figura 9. La radiación UV y su efecto de fotoenvejecimiento en la piel.

Figura 10. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.

Figura 11. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de actividad antioxidante versus concentraciones del aceite de quinua blanca.

Figura 12. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones del aceite de quinua roja.

Figura 13. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de actividad antioxidante versus concentraciones del aceite de quinua negra.

Figura 14. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones de Trolox.

Figura 15. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de actividad antioxidante versus concentraciones del aceite de quinua blanca.

Figura 16. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones del aceite de quinua roja.

Figura 17. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones del aceite de quinua negra.

Figura 18. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones de Trolox.

Figura 19. Identificación botánica de “quinua blanca” y “quinua roja”.

Figura 20. Identificación botánica de “quinua negra” y certificado sanitario.

Figura 21. Aceite extraído por el método Soxhlet.

Figura 22. Aceite extraído por el método Bligh & Dyer.

Figura 23. Cremas dermocosméticas. A: Con aceite de quinua blanca al 9, 6 y 3 % de izquierda a derecha. B: con aceite de quinua roja al 9, 6 y 3 % de izquierda a derecha y C: Con aceite de quinua negra al 9, 6 y 3 % de izquierda a derecha.

Figura 24. Cromatograma de ácidos grasos del aceite de quinua blanca.

Figura 25. Cromatograma de ácidos grasos del aceite de quinua roja.

Figura 26. Cromatograma de ácidos grasos del aceite de quinua negra.

Figura 27. Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles del aceite quinua blanca.

Figura 28. Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles del aceite quinua roja.

Figura 29. Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles del aceite quinua negra.

Figura 30. Ratones depilados, aplicación de la crema de quinua y exposición a la radiación UV.

Figura 31. Prueba de centrifugación, evaluación del pH y extensibilidad de las cremas dermocosméticas con aceite de quinua.

Figura 32. Evaluación macroscópica de la piel sin exposición a RUV, con crema base, con exposición directa a RUV y con crema comercial.

Figura 33. Evaluación macroscópica de la piel tratada con crema de quinua blanca, roja y negra al 3%.

Figura 34. Evaluación macroscópica de la piel tratada con crema de quinua blanca, roja y negra al 6 %.

Figura 35. Evaluación macroscópica de la piel tratada con crema de quinua blanca, roja y negra al 9 %.

Figura 36. Cortes histológicos de la piel del ratón sin exposición a RUV, con crema base, con exposición directa a RUV y con crema comercial en hematoxilina-eosina 100X.

Figura 37. Cortes histológicos de la piel del ratón aplicado la crema de quinua blanca, roja y negra 3 % en hematoxilina-eosina 100X.

Figura 38. Cortes histológicos de la piel del ratón aplicado la crema de quinua blanca, roja y negra 6 % en hematoxilina-eosina 100X.

Figura 39. Cortes histológicos de la piel del ratón aplicado la crema de quinua blanca, roja y negra 9 % en hematoxilina-eosina 100X.

ABREVIATURAS

RUV: Radiación ultravioleta.

UVA: Luz ultravioleta tipo A

UVB: Luz ultravioleta tipo B

Will: *Willdenow*.

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil.

ABTS^{•+}: Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6- sulfónico.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de Alta Presión y Polaridad).

FRAP: Poder antioxidante reductor del hierro.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

EPA: Ácido eicosapentaenoico.

DHA: Ácido docosahexaenoico.

ALA: Ácido grasos alfa linolénico.

PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados.

SOD: Superóxido dismutasa.

BHT: Butil hidroxitolueno.

BHA: Butil hidroxianisol.

TBHQ: Terbutil hidroquinona.

O₂^{•-}: Superóxido.

H₂O₂: peróxido de hidrógeno.

OH⁻: hidroxilo.

HO₂⁻: Dióxido de hidrógeno.

ROO⁻: Radical peroxilo.

RO⁻: Radical alcóxido.

IICFyRN: Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos
Naturales Juan de Dios Guevara.

I. INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa Willdenow*) puede considerarse como una especie oligocéntrica, con centro de origen de amplia distribución y diversificación múltiple, considerándose las orillas del Lago Titicaca como la zona de mayor diversidad y variación genética, también constituye medicina y alimento básico del hombre andino, por el balance ideal de aminoácidos esenciales, otros nutrientes que contiene para el normal desarrollo y crecimiento, teniendo cualidades nutraceuticas, ortomoleculares, antienviejecimiento y medicinales^{1,2}.

El aceite de quinua es investigado con el fin de conocer los componentes químicos presentes. El rendimiento del aceite de quinua y su poder antioxidante varían de acuerdo a la procedencia geográfica, ya que, su cultivo es a nivel mundial por ser una planta altamente adaptable a condiciones ecológicas extremas. La presencia de ácidos grasos, tocoferoles, tocotrienoles y carotenoides hacen de este aceite uno de los más nutritivos tanto a nivel interno como externo de nuestro organismo. El contenido de vitamina E en el aceite de quinua le confiere un efecto protector antioxidante frente a la luz. Diversas investigaciones indican que la actividad antioxidante (efecto fotoprotector) es proporcionada por una serie de sustancias naturales incluyendo vitamina E, β -caroteno y vitamina C, cuyos efectos son mediados por su capacidad para prevenir la formación de radicales libres, eliminar el oxígeno singulete y radicales libres²⁻⁷.

En la actualidad, hay extensas actividades de investigación en curso relacionados con el desarrollo y caracterización de formulaciones cargadas de extractos vegetales para alcanzar simultáneamente varios objetivos tales como el efecto antiinflamatorio y antienvjecimiento. Investigaciones realizadas demuestran que la aplicación tópica de vitamina E en ratones sin pelo reduce el 60 % de radicales libres después de la exposición a RUV B o RUV A, pudiendo bloquear la fotocarcinogénesis. Extendiéndose el estudio en humanos. La eficacia de la vitamina E aplicada tópicamente puede ser mejorada por otros antioxidantes como la vitamina C y el glutatión^{8,9}.

El estudio tiene como objetivo determinar la presencia de ácidos grasos, tocoferoles, tocotrienoles y evaluar la actividad antioxidante de los aceites de quinua (blanca, roja y negra), así como el efecto antienvjecimiento de las cremas dermocosméticas elaboradas con los aceites de quinua, con el fin de emplearla en el desarrollo de productos dermocosméticos y así aportar en la industrialización de este recurso.

1.1. Objetivo general

- Evaluar la actividad antioxidante y composición de los ácidos grasos, tocoferoles y tocotrienoles en los aceites de tres variedades de *Chenopodium quinoa Willd.* y elaborar una crema dermocosmética antienvjecimiento.

1.2. Objetivos específicos

- Identificar y cuantificar los ácidos grasos en los aceites de tres variedades de *Chenopodium quinoa Willd.* (quinua blanca, quinua roja y quinua negra).
- Identificar y cuantificar los tocoferoles y tocotrienoles en el aceite de cada especie de *Chenopodium quinoa Willd.*
- Evaluar la actividad antioxidante del aceite de cada especie de *Chenopodium quinoa Willd.* por los métodos de DPPH y ABTS⁺.
- Evaluar el efecto antienvjecimiento, *in vivo*, de la crema dermocosmética antienvjecimiento con aceite de quinua.

1.3. Hipótesis

Las cremas dermocosméticas elaboradas con tres variedades de aceite de *Chenopodium quinoa Willd.* que contienen ácidos grasos, tocoferoles y tocotrienoles manifiestan actividad antioxidante y antienvjecimiento.

II. GENERALIDADES

2.1. Antecedentes

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) fue descrita por primera vez en sus aspectos botánicos por Willdenow en 1778, como una especie nativa de Sudamérica, cuyo centro de origen, según Buskasov se encuentra en los Andes de Bolivia y Perú, esto fue corroborado por Gandarillas, quien indica que su área de dispersión geográfica es bastante amplia, no sólo por su importancia social y económica, sino porque allí se encuentra la mayor diversidad de ecotipos tanto cultivados técnicamente como en estado silvestre¹⁰.

La familia Chenopodiaceae es una familia numerosa que comprende aproximadamente 102 géneros y 1400 especies. Muchos de estos poseen propiedades terapéuticas y comestibles. Los usos generalizados del género *Chenopodium* en medicina tradicional han dado lugar a un considerable análisis químico de las plantas y sus principios activos. Las investigaciones fitoquímicas del género *Chenopodium* han proporcionado compuestos con una gran variedad de patrones estructurales. Desde el punto de vista fitoquímico, se reportó que contienen: minerales, metabolitos primarios (carbohidratos, aminoácidos, constituyentes no polares, proteínas, citoquininas aromáticas, hormonas) y metabolitos secundarios (flavonoides, saponinas, terpenos, esteroides, alcaloides y vitaminas). En la medicina, se le atribuyen propiedades cicatrizantes, desinflamantes, analgésicas y desinfectantes^{11,12}.

Las aplicaciones de la quinua en la medicina tradicional son conocidas desde tiempos remotos. En las comunidades del altiplano y los valles se mencionan que los curanderos Kallawayas (en Aymara significa portadores de yerbas medicinales) hacen múltiples usos de la quinua para fines curativos e inclusive mágicos, utilizando por ejemplo el grano, los tallos, y las hojas para este fin. Los modos de preparación y de aplicación varían para uso interno como externo. Entre sus usos más frecuentes se pueden mencionar el tratamiento de abscesos, hemorragias y luxaciones². Estudios determinaron que los ecotipos; factores como procesos genéticos, agrotécnicos y condiciones ambientales, influyen sobre las características fisicoquímicas, actividad antioxidante, vitaminas y por tanto en su valor nutritivo de la quinua⁴.

El contenido de aceite de la semilla de quinua varía desde 1,8 - 9,5 %, con una media global calculada de 5,8 %, un contenido de aceite superior al del maíz normal. La composición global de ácidos grasos de las semillas de quinua enteras fue similar a la reportada para otros granos de cereales, siendo los principales ácidos presentes los ácidos linoleico, oleico y palmítico que normalmente hacen a los aceites susceptibles a la rancidez oxidativa, pero a la vez tiene concentraciones relativamente altas de antioxidantes naturales, isómeros de tocoferol^{5,13}.

En el Perú, determinaron que el mayor porcentaje de ácidos grasos presentes en el aceite de quinua es el omega 6 (ácido linoleico), 50,24 %, valor similar a lo encontrado en el aceite del germen de maíz, que tiene un

rango de 45 - 65 %. El omega 9 (ácido oleico) se encuentra en segundo lugar, siendo 26,04 % para aceite de quinua. Los valores encontrados para el omega 3 (ácido linolénico) son de 4,77 %, seguido del ácido palmítico con 9,59 %. Encontraron también otros ácidos grasos en pequeña proporción, como el esteárico y el eicosapentaenoico. El 11% de los ácidos grasos totales de la quinua eran saturados, siendo el palmítico el predominante. El linoleico, oleico y alfa-linolénico fueron los ácidos insaturados predominantes con concentraciones de 52,3; 23,0 y 8,1 % respectivamente. Otra investigación, halló aproximadamente 2 % de ácido erúxico y 56 % de linoleico como principal ácido graso en la quinua, seguido por el oleico (21,1 %), palmítico (9,6 %) y linolénico (6,7 %); el 11,5 % de los ácidos grasos totales de la quinua son saturados^{2,13}.

En la extracción de aceites de *Chenopodium quinoa Willd.* (quinua), *Lupinus mutabilis* (chocho), *Amaranthus hypochondriacus* (amaranto) y el *Amaranthus quitensis* (sangorache) se destacó el contenido de ácido oleico con 55,97 % en el aceite de quinua. En los aceites del “amaranto” y “sangorache” predominó el de amaranto cocido con 49,52 % de ácido linoleico, determinaron también que el procesamiento no afecta el perfil de ácidos grasos, no sucediendo igual con los tocoferoles y esteroides, cuyo contenido disminuyó sustancialmente por efecto de los diversos procesos aplicados¹⁴.

En los aceites de quinua de dos ecotipos analizados por cromatografía gas-líquido concluyeron que predominan los ácidos grasos insaturados,

destacando el alto contenido de ácido linoleico alrededor de 56 % y oleico de 21 %; y moderado linolénico con un promedio de 5 %. El alto contenido de tocoferoles del orden de 1 100 ppm en promedio para los aceites estudiados le brinda una buena protección frente a la rancidez oxidativa⁶.

Para determinar la composición de vitamina E en pseudocereales como el amaranto, quinua y trigo sarraceno por el método de extracción con hexano seguido de una cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), encontraron que el contenido más alto de vitamina E (expresados como equivalente de alfa-tocoferol) está en granos de quinua, seguido de amaranto y trigo sarraceno (24,7; 15,4 y 6,3 g/g respectivamente). Ninguno de los granos contenía tocotrienoles¹⁵.

En la actividad antioxidante de extractos y fracciones de *Chenopodium quinoa Willd.* y *Amaranthus SPP*, midieron su potencia antioxidante utilizando tres métodos establecidos, específicamente la actividad de eliminación de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) y los ensayos de blanqueo b-caroteno. La actividad antioxidante fue menos correlacionada con el contenido de compuestos fenólicos¹⁶.

Generalmente los antioxidantes se comportan como compuestos antienviejecimiento en acción, porque son capaces de limpiar la piel de especies reactivas de oxígeno (ROS) dejándolo saludable. Dado que los sistemas vivos tienen la capacidad de mantener homeostasis de ROS en

la célula. Si hay desequilibrio entre los oxidantes y antioxidantes endógenos, los antioxidantes exógenos son útiles para restablecer el equilibrio⁹.

Los radicales libres producidos por fuentes externas, especialmente la radiación UV, pueden conducir al cáncer y al fotoenvejecimiento de la piel, que incluye daño dérmico con pérdida de colágeno, presencia de células inflamatorias mononucleares, reducción del número y tamaño de los fibroblastos. Para ello extractos de muchas plantas, cítricos y hortalizas de hojas como fuente de ácido ascórbico, vitamina E y compuestos fenólicos poseen la capacidad de reducir el daño oxidativo^{17,18}.

El envejecimiento es un proceso que implica un lento deterioro en la función tisular y se produce en la mayoría de los órganos del cuerpo, incluida la piel (envejecimiento intrínseco), la genética, la exposición ambiental, cambios hormonales, y procesos metabólicos influyen en el proceso de envejecimiento. La piel humana también se ve afectada por los cambios adicionales superpuestos o "envejecimiento acelerado" que resultan del daño ambiental (por RUV principalmente) y se denomina fotoenvejecimiento^{19,20}.

Hay dos mecanismos de fotoenvejecimiento de la piel. La primera implica la producción inducida por UVA de especies de oxígeno reactivas. El segundo mecanismo se basa en una interacción directa de UVB con ADN y la inducción de daño en la estructura del ADN. La exposición a radiación ultravioleta (RUV) es la principal fuente de quemadura solar de la piel y

ésta puede ser tratada y protegida de los efectos perjudiciales de ROS mediante el uso de diversas formulaciones farmacéuticas, tales como crema que puede ser cargada con antioxidantes para saciar los efectos de ROS conduciendo a efecto fotoprotector^{9,21}.

En el fotoenvejecimiento, la peroxidación lipídica, el daño a las proteínas de la membrana y la mutación del ADN pueden conducir a muchas alteraciones estructurales, cambios funcionales y estéticos en la piel y también puede iniciar el desarrollo de muchas enfermedades. La aplicación tópica de antioxidantes, tales como vitamina C y E, coenzima Q10 y compuestos polifenólicos pueden proporcionar el fortalecimiento del sistema de protección endógeno de la piel y la protección de los efectos nocivos de ROS y daño oxidativo a la piel²².

2.2. Aspecto botánico

2.2.1. Clasificación taxonómica

La identificación y clasificación taxonómica se llevó a cabo en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos la cual emitió una constancia por cada muestra (Anexo 1). Su posición taxonómica fue según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

a) Quinoa blanca

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Caryophyllidae

Orden: Caryophyllales

Familia: Chenopodiaceae

Género: *Chenopodium*

Especie: *Chenopodium quinoa Willdenow*

Nombre vulgar: "Quinoa blanca".



b) Quinoa roja

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Caryophyllidae

Orden: Caryophyllales

Familia: Chenopodiaceae

Género: *Chenopodium*

Especie: *Chenopodium quinoa Willdenow*

Nombre vulgar: "Quinoa roja".



c) Quinoa negra

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Caryophyllidae

Orden: Caryophyllales

Familia: Chenopodiaceae

Género: *Chenopodium*

Especie: *Chenopodium quinoa Willdenow*

Nombre vulgar: “Quinua negra”.



2.2.2. Descripción morfológica

La raíz es pivotante vigorosa y profunda (Figura 1) de la cual emergen raíces formando un sistema radicular bien ramificado. **El tallo** es cilíndrico en la base tornándose angulosa a partir de la zona donde emergen hojas y ramas, en forma alternada (figura 1). La corteza es firme y compacta formada por tejidos fuertes. El color del tallo puede ser verde, amarillo, rojo, púrpura, naranja o verde con estrías verticales de otra coloración²³.



Figura 1. Raíz y tallo de la quinua²³.

Las hojas son alternas y están formadas de peciolo y lámina (Figura 2). Los peciolos son acanalados y largos; la longitud del peciolo es mayor en las hojas que se originan del tallo principal y menor en las ramas. Las hojas de forma lanceoladas carecen de dientes. El color de las hojas puede ser verde, rojo o púrpura con diferentes tonalidades. **La inflorescencia** es una panoja con una longitud que varía de 15 a 70 cm dependiendo de los genotipos, tipo de quinua, lugar donde se desarrolla y condiciones de fertilidad de los suelos. Las panojas pueden ser claramente diferenciadas y terminales o no diferenciadas debido al tipo de ramificación del eje principal (Figura 2). Los colores de la panoja son muy diversos: verdes, amarillas, naranjas, rosadas, rojas, granates, púrpuras, violetas, marrón, gris y negras. Las inflorescencias han sido clasificadas por su forma en glomeruladas, amarantiformes e intermedias. Las intermedias son resultados de las cruzas entre glomeruladas y amarantiformes²³.



Figura 2. Hojas e inflorescencia de la quinua²³.

Las flores están agrupadas en glomérulos (Figura 3). En el ápice del glomérulo se localizan las flores hermafroditas y alrededor de ellas las flores pistiladas o femeninas. Las flores son incompletas carecen de pétalos. **El fruto** es un aquenio, un fruto seco. Está cubierto por el perigonio sepaloide que puede ser verde, rojo o púrpura durante el proceso de formación del grano. Los frutos de la quinua han sido agrupados en: grandes, cuando tienen un diámetro mayor a 2,2 mm., medianos de 1,8 a 2,2 mm., y pequeños con un diámetro menor a 1,8 mm. Las partes del fruto son el pericarpio y las semillas. Las semillas están conformadas por el episperma, el perisperma y el embrión. El pericarpio es la capa externa del fruto que presenta alveolos. Sus colores son variados (Figura 3) y pueden ser translucidos, blancos, cremas, amarillos, anaranjados, rosados, rojos, purpuras, marrones, grises y negros entre otros. El episperma es la capa de la semilla, está formado de cuatro capas y la más interna se desintegra por compresión a la madurez, presenta la saponina que le da el sabor amargo al grano. El embrión está formado por dos cotiledones y la radícula. Representa el 30 % del peso del grano a diferencia del trigo en el que representa el 1 %. Envuelve como un anillo al tejido de reserva. Perisperma es el tejido de reserva de los almidones y otros nutrientes de grano, está formado por divisiones de la nucela, es de color blanquecino y representa prácticamente el 60 % de la superficie de la semilla²³.



Figura 3. Flores y semillas de la quinua ²³.

2.2.3. Hábitat y distribución geográfica

La quinua es una planta herbácea anual, dicotiledónea de amplia dispersión geográfica, con características peculiares. Su periodo vegetativo varía desde 90 hasta 240 días, se adapta a suelos ácidos de pH 4,5, hasta alcalinos con pH de 9,0; asimismo prospera en suelos arenosos hasta los arcillosos ²⁴.

Se considera las orillas del Lago Titicaca como la zona de mayor diversidad y variación genética. La distribución geográfica de la quinua en la región se extiende desde los 5º Latitud Norte al sur de Colombia, hasta los 43º Latitud Sur en la Décima Región de Chile, y su distribución altitudinal varía desde el nivel del mar en Chile hasta los 4 000 m.s.n.m. en el altiplano que comparten Perú y Bolivia, existiendo así, quinuas de costa, valles, valles interandinos, puna y altiplano. En la distribución geográfica de la producción mundial de quinua los países con mayor producción son Bolivia, Perú y Ecuador. Sin embargo, producto de más de veinte años de trabajo que se viene desarrollando en países

potenciales de Europa, Asia, África, Australia, Norte América y de la región la producción de la quinua se encuentra en franco proceso de expansión hacia diferentes espacios geográficos del planeta por sus extraordinarias características de adaptación y adaptabilidad².

2.2.4. Usos y aplicaciones

Los usos medicinales de la quinua desde la antigüedad a la fecha, son: tratamientos de fractura, torceduras, luxaciones de huesos. Evita melancolía y tristeza por el contenido de litio, son galactogénicos, previene el cáncer al útero y problemas de menopausia por contener fitoestrógenos, contribuye a la cura de la tuberculosis por tener proteína de alto valor biológico, regula los niveles de colesterol por el alto contenido de fibra dietética y ácidos grasos insaturados (ácido oleico, linolénico, linoléico), contiene antioxidantes: betalainas, betazhantinas, necesarios para conservar la salud; la saponina evita poliglobulia debido a su acción hemolítica¹.

Existen varios productos derivados de la quinua como harinas, fideos, etc.; sin embargo productos más elaborados están en proceso de ser explotados, como es el caso de la extracción de aceite de quinua, del almidón, la saponina, concentrados proteicos, leche de quinua, extracción de colorantes de las hojas y semillas, etc. Estos productos son considerados el potencial económico de la quinua por darle uso a características no solo nutritivas sino fisicoquímicas que abarcan más allá de la industria alimentaria y ofrece productos a la industria química, farmacéutica y cosmética²⁵.

Hoy en día, Perú, Bolivia, Chile, Ecuador, Colombia y Argentina han expandido la producción de este pseudocereal y hay un gran interés tecnológico y comercial no sólo para la nutrición humana sino también la industria farmacéutica⁴.

2.3. Aspecto químico

2.3.1. Composición química de la semilla de quinua

2.3.1.1. Proteínas

La quinua es considerada como el único alimento del reino vegetal que posee todos los aminoácidos esenciales (37 %). Lo que caracteriza a la quinua es su valor proteico elevado, donde la calidad de sus proteínas y balance son superiores en ésta, que en los otros cereales, fluctuando entre 12,5 a 16,7 %. Los aminoácidos que contienen en mayor cantidad con respecto a otros cereales son: ácido glutámico, ácido aspártico, isoleucina, lisina, fenilalanina, tirosina y valina^{2,26}.

2.3.1.2. Carbohidratos

Los carbohidratos de las semillas de quinua contienen entre un 58 y 68 % de almidón y un 5 % de azúcares, lo que la convierte en una fuente óptima de energía que se libera en el organismo de forma lenta por su importante cantidad de fibra².

2.3.1.3. Lípidos

Las semillas de quinua tienen una interesante composición lipídica de aproximadamente 1,8 - 9,5 %. La quinua tiene un contenido de aceite (7 % base seca) mayor que el maíz (4,9 % base seca) y menor que la soja (20,9 % en seco). Los lípidos en las semillas de quinua contienen grandes cantidades de lípidos neutros, los triglicéridos son la mayor fracción presente, representando más del 50 %. Los diglicéridos están presentes en semillas enteras y aportan el 20 % de la fracción de lípidos neutros. De los fosfolípidos examinados, la lisofosfatidil etanolina, fue la más abundante y constituyó el 45 % de los lípidos polares totales. La fosfatidilcolina fue el segundo componente de fosfolípidos más importantes y constituyó el 12 %^{13,27}.

A. Ácidos grasos

En el aceite de quinua se puede observar que los grupos de ácidos grasos predominantes son los ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados, Los valores de ácidos grasos en el grano crudo son de 8,1; 52,3 y 23 % de omega-3, omega-6, omega-9, respectivamente; entre los que destacan principalmente el ácido linoleico, el linolénico y el oleico^{6,26}.

Los ácidos grasos omega-6 y omega-3 son esenciales porque no pueden ser sintetizados por los seres humanos, quienes deben obtenerlos de los alimentos. Los ácidos grasos esenciales se metabolizan en ácidos

grasos de cadena larga de 20 y 22 átomos de carbono. El ácido linoleico (Omega-6) se metaboliza a ácido araquidónico y ácido linolénico (Omega-3) a ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA)²⁷.

El perfil de ácidos grasos en la planta durante el crecimiento difiere del aceite de semilla. Toda la planta fue caracterizado por una elevada proporción de ácido alfa-linolénico (ALA, C18: 3 n - 3) y de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), de 385 a 474 g/kg y 611 a 691 g/kg de ácidos grasos totales, respectivamente. El contenido de linoleico, varía de 146 a 176 g/kg de ácidos grasos totales, disminuye con el aumento del crecimiento y luego aumenta. Mientras que el palmítico, oleico y esteárico no varían durante el crecimiento²⁸.

B. Tocoferoles y tocotrienoles

Tocoferoles y tocotrienoles son otra clase de compuestos liposolubles presentes en semillas de quinua. Estos compuestos son colectivamente vitamina E, que es esencial para la salud humana, pero también son fuertes antioxidantes que protegen los aceites de las plantas de la oxidación, y ayudan a nuestro cuerpo a eliminar el exceso de radicales libres. La quinua presenta α - tocoferol, β tocoferol, γ - tocoferol, δ tocoferol y α y β tocotrienol⁶⁻⁷.

C. Carotenoides y fitosteroles

En el análisis del Contenido Total de Carotenoides (TCC) de la quinua blanca, roja y negra obtuvieron 11,87; 14,97 y 17,61 $\mu\text{g/g}$, respectivamente, lo que indica que cuanto más oscura es la capa de la semilla, más alta es el TCC. Los carotenoides, principalmente trans-luteína (84,7 - 85,6 %) y zeaxantina fueron confirmados por primera vez en semillas de quinua, y la concentración fue también la más alta en semillas negras, seguido por la quinua roja y blanca⁷.

El escualeno es un intermediario en la biosíntesis del colesterol, y 33,9 - 58,4 mg/100 g se encuentra en la fracción lipídica de la quinua, el escualeno es el precursor bioquímico de toda la familia de esteroides y además de su actividad antioxidante efectiva. Los niveles de fitosteroles de semillas de quinua reportados fueron beta-sitosterol 63,7 mg/100 g, campesterol 15,6 mg/100 g y estigmasteroles 3,2 mg/100 g, que son los esteroides vegetales más abundantes²⁷.

2.3.1.4. Contenido fenólicos y flavonoides

Se encuentran al menos 23 compuestos fenólicos en formas libres o conjugadas, la mayoría de los cuales son ácidos fenólicos principalmente vanílico, ferúlico y sus derivados; flavonoides como quercetina, kaempferol y sus glucósidos; Betacianinas principalmente betanina e isobetanina. Las semillas más oscuras de quinua tenían mayor concentración fenólica y actividad antioxidante²⁹. En semillas de quinua

coloreadas del altiplano peruano se encontró la presencia de ácido gálico, quercetina y betalainas como betacianinas y betaxantinas³⁰.

2.3.1.5. Vitaminas y minerales

La quinua posee un alto contenido de vitaminas del complejo B, C y E donde su contenido de vitamina B y C es superior al del trigo. Es rica en caroteno y niacina (B3). Contiene más riboflavina (B2), tocoferol (vitamina E) y caroteno que el trigo y el arroz. El grano de quinua tiene casi todos los minerales en un nivel superior a los cereales, contiene fósforo, calcio, hierro, potasio, magnesio, manganeso, zinc, litio y cobre²⁶.

2.3.1.6. Saponinas

La literatura reporta la presencia de al menos 30 saponinas triterpénicas distribuidas en todas las partes de la planta, tales como hojas, frutos, flores, semillas y la cáscara de las semillas. La existencia de diferentes variedades de quinua se asocia a los distintos niveles de saponinas. Dado el contenido de saponinas reportado, la mayoría se clasifican como amargas (saponinas > 0,11 %), siendo este un aspecto valioso para su aprovechamiento³¹.

2.3.2. Lípidos

Los lípidos biológicos son compuestos cuya característica común y definitoria es su insolubilidad en agua y la presencia de cadenas relativamente largas de átomos de carbono³²⁻³⁴.

2.3.2.1. Clasificación de los lípidos

Según su estructura tenemos lípidos simples, lípidos complejos y compuestos asociados³⁵.

Lípidos simples son derivados de ácidos grasos de cadena larga. Mayoritariamente son ésteres de ácidos grasos y alcoholes. Se encuentran las grasas, aceites, y ceras.

Lípidos complejos están formados generalmente por lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas. Se encuentran los fosfoglicéridos, glucolípidos y lipoproteínas.

Lípidos asociados se unen a diferentes compuestos en proporción variable entre 0,2 – 2 %. Los principales compuestos asociados son: ácidos grasos (derivados de los lípidos simples), pigmentos, vitaminas liposolubles, esteroides e hidrocarburos.

2.3.2.2. Ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos con cadenas hidrocarbonadas de 4 a 36 carbonos (C₄ a C₃₆). En algunos ácidos grasos, esta cadena está completamente saturada (no tiene dobles enlaces) y sin ramificar;

otros contienen uno o más dobles enlaces. Unos cuantos contienen anillos de tres carbonos, grupos hidroxilo o grupos metilo ramificados³³.

La molécula de ácido graso tiene dos regiones químicas diferenciadas (Figura 4). Una de ellas es una larga cadena de hidrocarburos (R), hidrófoba y poco reactiva químicamente. La otra es un carboxilo, que se comporta como un ácido, se ioniza en solución y es muy hidrofílico y químicamente reactivo, por ello las moléculas lipídicas son anfipáticas. Los más abundantes son los de 14 a 24 átomos de carbono, predominando los de 16 a 18. Casi todas las moléculas de ácido grasos se unen por enlaces covalentes a otras moléculas a través del grupo carboxilo^{32,36}.

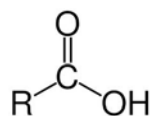


Figura 4. Estructura básica del ácido graso³³.

La relación de ácidos grasos en los aceites vegetales es realmente sencilla; es por el número de picos que aparecen en un cromatograma. Para su estudio se dividen en dos grandes grupos, los saturados y los insaturados³⁷.

Ácidos grasos saturados varían de 4 a 26 átomos de carbono y su temperatura o punto de fusión aumenta con el peso molecular o largo de la cadena; así los C₄ a C₈ son líquidos a 25°C, mientras que los C₁₀ en adelante son sólidos (Tabla 1), y su solubilidad en agua es inversamente proporcional al peso molecular. Su nomenclatura se basa en el empleo de los nombres comunes, tales como butírico, cáprico, etc., o bien

añadiendo la terminación “oico” a la raíz griega que indica el tamaño de la cadena de átomos de carbono. Su numeración generalmente comienza a partir del grupo carboxilo cuyo carbono corresponde al número uno. Son más estables que los insaturados ante la oxidación; sin embargo, en condiciones de temperatura muy alta (más de 180°C), como llega a suceder en el freído, y en presencia de oxígeno, pueden sufrir reacciones oxidativas³⁷.

Tabla 1. Ácidos grasos saturados³⁷.

<i>Nombre trivial</i>	<i>Nombre científico</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Punto de fusión (°C)</i>
Butírico	Butanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	-5.9
Caproico	Hexanoico	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	-3.4
Caprílico	Octanoico	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	16.7
Cáprico	Decanoico	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	31.6
Láurico *	Dodecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	44.2
Mirístico *	Tetradecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	54.4
Palmítico *	Hexadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	63
Estéarico*	Octadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	69.4
Araquídico	Eicosaenoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	76
Behénico	Docosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	79.9
Lignocérico	Tetracosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	84.2
Cerótico	Hexacosanoico	CH ₃ (CH ₂) ₂₄ COOH	87.7

*Ácidos grasos saturados más comunes en alimentos.

Ácidos grasos insaturados debido a sus insaturaciones, estos compuestos (Tabla 2) tienen una gran reactividad química, ya que son propensos a la saturación, transformaciones oxidativas y de isomerización. Son muy abundantes en los aceites vegetales y marinos; su temperatura de fusión disminuye con el aumento de las dobles ligaduras, y siempre es menor que la de los saturados para una misma

longitud de cadena. Los de una insaturación se llaman monoinsaturados (la mayoría presenta doble ligadura en C9 y C10), y a los de más de una se les denomina poliinsaturados. Hay dos nomenclaturas de los ácidos grasos en lo que se refiere a la posición del primer doble enlace. Si se enumera a partir de la posición ácido (COOH), se indica con la nomenclatura Δ , y se numera a partir del extremo metilo (CH₃) terminal, se utiliza la nomenclatura ω ^{35,37}.

Tabla 2. Ácidos grasos insaturados³⁷.

<i>Nombre trivial</i>	<i>Nombre científico</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Punto de fusión (°C)</i>
Palmitoleico	Hexadeca-9-enoico	C ₁₅ H ₂₉ COOH	-0.5
Oleico *	Octadeca-9-enoico	C ₁₇ H ₃₃ COOH	13.0
Linoleico *	Octadeca-9:12-dienoico	C ₁₇ H ₃₁ COOH	-0.5
Linolénico *	Octadeca-9:12:15-trienoico	C ₁₇ H ₂₉ COOH	-11.0
Araquidónico	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	C ₁₉ H ₃₁ COOH	-49.5
Vaccénico	Trans-Octadeca-11-enoico	C ₁₇ H ₃₃ COOH	40.0
Gadoleico	Eicosa-11-enoico	C ₁₉ H ₃₇ COOH	23.5
Erúcico	Docosa-13-enoico	C ₂₁ H ₃₉ COOH	38.0

*Ácidos grasos insaturados más comunes en alimentos

Las insaturaciones presentan dos tipos de isomerismo: a) geométrico, cis-trans; y b) posicional, según sea la localización de la doble ligadura en la cadena de átomos de carbono. En estado natural, la mayoría de ellos son cis, mientras que los trans se encuentran en grasas hidrogenadas comerciales y en algunas provenientes de rumiantes, como el sebo. Cabe indicar que los trans son termodinámicamente más factibles y estables que los isómeros cis; sus cadenas lineales y rígidas tienen un menor ángulo de la doble ligadura, lo que provoca una

asociación y empaquetamiento molecular compacto (cristal) semejante a un saturado³⁷.

2.3.3. Vitamina E

El término vitamina E se introdujo por primera vez en el año 1922 por Evans y Bishop. Años más tarde Emerson logró aislar y purificar este factor E y le dio el nombre de tocoferol, cuya etimología viene del griego *tokos* (nacimiento) y *pherein* (manifestar o poner a la luz). El sufijo -ol se añadió para indicar la naturaleza alcohólica (fenol) de la sustancia. La vitamina E está formada por un grupo de 8 moléculas anfipáticas (vitámeros) esenciales para la dieta humana. Estos se dividen en dos: cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles que se diferencian en la saturación de la cadena lateral (fitil), los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles, una cadena insaturada con tres dobles enlaces³⁸⁻⁴⁰.

La función principal de la vitamina E es ser componente estabilizador de las membranas y su papel catalítico y regulador del metabolismo intermediario, además es necesaria para mantener normal la estructura y función neurológica⁴⁰. La cuantificación de la vitamina E se puede realizar por pruebas funcionales, métodos espectrofotométricos o cromatográficos⁴¹.

2.3.3.1. Estructura química de tocoferoles y tocotrienoles

Su estructura consta de dos partes primarias (Figura 5): un anillo complejo cromanol y una larga cadena lateral (poliprenol) que en el caso de los tocoferoles está totalmente saturada y deriva del fitol difosfato (PDP) y en el caso de los tocotrienoles está tres veces insaturada (con un doble enlace en los carbonos 3', 7' Y 11'), derivada del geranil-geranil difosfato (GGDP) (Figura 6). Cada uno de estos dos grupos están formados por cuatro homólogos (α , β , γ y δ) que difieren en el número y posición de los grupos metilo del anillo aromático. La forma α tiene tres sustituyentes metilo en el anillo aromático, las formas β y γ tienen dos, pero en posiciones diferentes y la forma δ solo uno³⁸⁻⁴⁰.

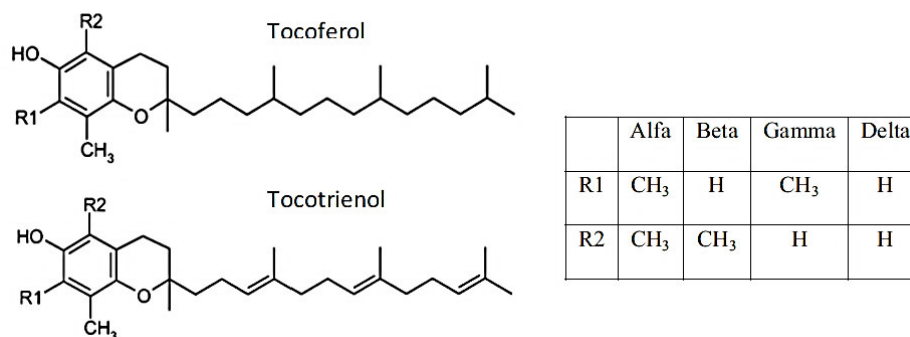


Figura 5. Estructura básica de los tocoferoles y tocotrienoles³⁸.

La estructura básica de los tococromanoles, una cola hidrocarbonada unida a una cabeza polar, hace que sean moléculas anfipáticas que se distribuyen insertando la cola hidrocarbonada en las membranas lipídicas

del cloroplasto y el anillo aromático polar se mantiene en la superficie de éstas. Las diferencias de estructura entre los diferentes homólogos, como los patrones de metilación del anillo aromático o el grado de saturación de la cadena lateral, confieren propiedades químicas y físicas ligeramente diferentes. Por un lado, pueden aportar diferentes grados de capacidad antioxidante, siendo los α -cromanoles los que presentan mayor capacidad antioxidante *in vitro*, y el α -tocoferol, en concreto, la mayor actividad biológica^{38,39}.

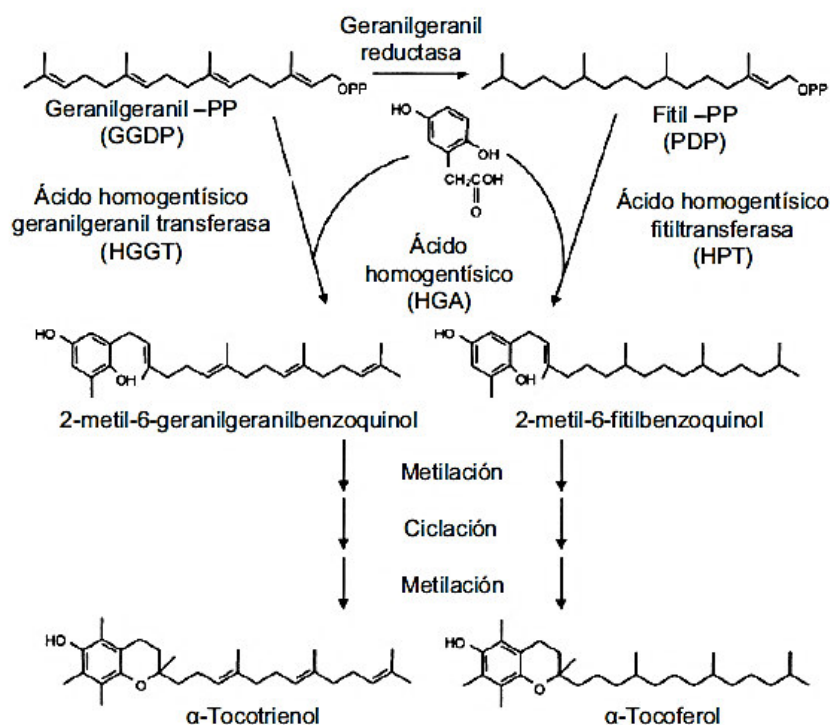


Figura 6. Mecanismo biosintético de α -tocoferol y α -tocotrienol³⁹.

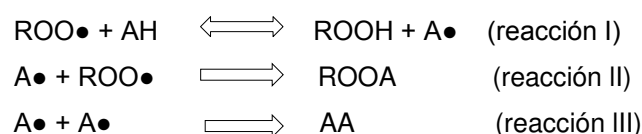
Los tocoferoles contienen tres centros quirales simétricos en la posición del número 2 del anillo cromanol y en las posiciones de los números 4'y 8'de la cadena lateral fitil. Por tanto, por cada tocoferol existen ocho

posibles estereoisómeros, de los que sólo uno abunda en la naturaleza, el isómero RRR, también conocido como d- α -tocoferol. La rotación R en la posición 2 confiere mayor bioactividad a la molécula que la rotación S. Cuando se sintetiza la vitamina E, se obtiene una mezcla igual de los ocho estereoisómeros, y el producto se denomina α -tocoferol todo-racémico (antes llamado dl- α -tocoferol)⁴⁰.

2.3.3.2. Mecanismo de acción antioxidante de tocoferoles y tocotrienoles

Esta actividad antioxidante radica en su capacidad de protección de las membranas celulares, acción que realiza impidiendo la oxidación de las mismas por los radicales libres. Su acción antioxidante consiste en la interrupción de las etapas de propagación y descomposición del proceso de autoxidación y en la reacción con el oxígeno singulete en el proceso de fotoxidación. En la autoxidación los tocoferoles interrumpen las reacciones en cadena mediante la donación de un hidrógeno al radical peroxilo originando un radical ariloxilo y un hidroperóxido (reacción I); los radicales ariloxilo resultantes se estabilizan por deslocalización electrónica de la estructura fenólica, reaccionando fácilmente con otros radicales peroxilo para formar productos estables (reacción II); resultando poco probable que abstraigan átomos de hidrógeno de moléculas lipídicas intactas. Los múltiples productos de oxidación de los tocoferoles, que pueden formarse a partir de los radicales ariloxilo mediante una complicada gama de reacciones, incluyendo reacciones biomoleculares

de radicales ariloxilo para formar dímeros (reacción III), constituyen un tema de estudio complejo de gran importancia debido a que no se conoce claramente su contribución del efecto antioxidante³⁹.



En los tocoferoles el anillo aromático reacciona con las formas más reactivas de radicales del oxígeno y otros radicales libres, destruyéndolos. De este modo se protege de la oxidación de los ácidos grasos insaturados y se previenen de las lesiones oxidativas de los lípidos de las membranas, lo cual puede causar fragilidad celular³³.

La esterificación del grupo fenol del anillo cromanol con acetato, succinato o nicotinato protege de la oxidación a la molécula de tocoferol. Sin embargo, como este grupo fenol es el lugar activo para la función antioxidante de la vitamina E, los esteres tocoferil han de ser hidrolizados para que la vitamina pueda desarrollar actividad biológica⁴⁰.

2.3.3.3. Distribución de tocoferoles y tocotrienoles

Los tocoferoles se han encontrado en todos los organismos fotosintéticos analizados con la única excepción de *Anacystis nidulans*, una cianobacteria. Además, los niveles de α -tocopherol son un carácter evolutivo que tiende a aumentar en grupos evolutivamente más moderno. El α -tocopherol es la forma más abundante en la naturaleza y con mayor actividad biológica en animales basándose en la absorción fetal. En las

plantas, el α -tocoferol es la forma predominante en tejidos fotosintéticos, seguido de su precursor inmediato, el γ -tocoferol. Los tocoferoles los podemos encontrar en hojas, semillas, frutos, raíces, cotiledones, hipocótilos, flores y en los diferentes órganos florales y la cantidad y composición puede variar enormemente entre unos y otros^{33,38}.

Los tocoferoles son compuestos activos utilizados en cosméticos, productos para cabello, productos para el cuidado de la piel, como agentes humectantes y son adecuados para la protección solar, esto por su capacidad de quelar el singulete de oxígeno producido por la radiación celular, esta actividad es potenciada por un efecto sinérgico con la vitamina C y los carotenoides. Estudios epidemiológicos han demostrado los beneficios contra la aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, Alzheimer, Parkinson y contra el proceso de envejecimiento. En combinación con vitamina C y vitamina A (carotenoides) se potencializa su actividad de atrapar radicales libres, disminuye del proceso de lesiones pre cáncer en células cancerígenas⁴⁰.

Los tocotrienoles en el reino vegetal son mucho menos universales. No acostumbran estar presentes en tejidos fotosintéticos, aunque el α -tocotrienol se ha descrito en acículas de algunos miembros del género *Picea*. Son abundantes en semillas y en frutas. Especialmente en monocotiledóneas, y también en el látex de *Hevea brasiliensi*^{33,38}.

2.4. Antioxidantes y Radicales libres

2.4.1. Antioxidantes

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se les denomina antioxidantes, que son capaces de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, sin perder su estabilidad electroquímica, actúan donando electrones y evitando que los radicales los capten de las células. Se clasifican en endógenos y exógenos; también de acuerdo al modo de acción se clasifican como bloqueadores de radicales libres, quelantes de iones metálicos y como eliminadores de oxígeno^{42,43}.

Dentro de los antioxidantes endógenos tenemos: **la catalasa** que está localizada en los peroxisomas, con una doble actividad (catalasa y peroxidasa), la cual cataliza la reacción de reducción del peróxido de hidrógeno; **la superóxido dismutasa** (SOD) cataliza la disminución del radical superóxido para formar peróxido de hidrógeno y **la glutatión peroxidasa** se encarga de la reducción de hidroperóxidos intracelulares, peróxido de hidrógeno, grandes moléculas de peróxidos lipídicos procedentes del ataque de los radicales libres del oxígeno sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas y sobre productos derivados de las reacciones catalizadas por la enzima lipooxigenasa⁴².

Dentro de los antioxidantes exógenos se encuentran las vitaminas E y C, los betacarotenos, los flavonoides y los licopenos, los cuales se incorporan al organismo mediante la dieta⁴².

Antioxidantes naturales son más inocuos que las realizadas por síntesis y es así que se está buscando, en las fuentes naturales nuevas sustancias con propiedades antioxidantes que puedan reemplazar a los antioxidantes sintéticos. Entre los antioxidantes naturales encontrados en las plantas tenemos a los flavonoides, derivados del ácido cinámico, tocoferoles y ácidos orgánicos polifuncionales. **Antioxidantes sintéticos**, los más usados en la industria alimentaria que estabilizan y protegen grasas vegetales y animales tenemos al Butil hidroxitolueno (BHT), Butil hidroxianisol (BHA), Terbutil hidroquinona (TBHQ) y el Galato de propilo (PG)⁴³.

2.4.2. Radicales libres

Son átomos o moléculas que tienen uno o más electrones desapareados en su orbital más externo, este paramagnetismo les confiere una alta reactividad química y la capacidad de sustraer electrones (para completar su propio orbital) de otras moléculas tornando a éstas en radicales libres, generando así una reacción en cadena^{44,45}.

Los radicales libres son átomos por lo general de oxígeno, altamente reactivos e inestables; que se liberan cuando el alimento es metabolizado en nuestras células para producir energía y son inactivados por mecanismos enzimáticos y otros de atrapamiento. Los tres intermediarios

de la reducción parcial del oxígeno (O_2^- , H_2O_2 Y HO^-) se les denomina más propiamente “especies reactivas de oxígeno” (EROS), para diferenciarlos de las “especies reactivas de nitrógeno” (ERN), que comprende al óxido nítrico y al dióxido nítrico^{43,46,47}.

El término EROS se utiliza para designar de modo colectivo tanto a los radicales de oxígeno (superóxido, hidroxilo) como a especies no radicales, que se comportan como oxidantes (el oxígeno molecular “singulete” y el ácido hipocloroso)⁴⁶.

Entre las especies reactivas derivadas del oxígeno de importancia biológica tenemos a los radicales: superóxido (O_2^-), perhidroxilo (HOO^-), hidroxilo (OH^-), peroxilo (ROO^-), alcoxilo (RO^-), ERN's radicales y a los no radicales: oxígeno singlete (1O_2), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso ($HOCl$), hidroperóxido ($ROOH$), ERN's no radicales⁴⁶.

El radical (**OH \cdot**) es considerado el principal iniciador del ataque a todo tipo de macromoléculas⁴⁴. El radical superóxido (**O $_2$ \cdot**) es el único radical a través del cual se pueden formar la mayoría de las especies reactivas de oxígeno. Se puede producir un radical hidroxilo por la interacción del radical superóxido con el peróxido de hidrogeno (Figura 7); ataca a moléculas como el ADN, fosfolípidos de membrana, polisacáridos, tioles y aminas. También se le ha implicado en la peroxidación lipídica. El radical dióxido de hidrógeno (**HO $_2$ \cdot**) forma protonada del radical superóxido, puede reaccionar espontáneamente con otro radical hidroperóxido originando peróxido de hidrógeno. Es un oxidante mucho más potente que el radical superóxido y su vida media es mayor. Posee

la capacidad de iniciar y teminar la peroxidación lipídica, así como puede oxidar una amplia cantidad de compuestos biológicos⁴⁶.

El radical peroxilo (**ROO[•]**) se forma en la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, posee una relativa baja capacidad oxidante, una menor reactividad y mayor vida media en relación con el radical hidroxilo, lo que le confiere mayor capacidad de difusión en los sistemas biológicos; puede captar un átomo de hidrógeno de un lípido produciendo una reacción en cadena. También iniciarán la oxidación de proteínas y carbohidratos⁴⁶.

El radical alcoxilo (**RO[•]**) es un radical superóxido puede reaccionar con los hidroperóxidos lipídicos y formar radicales alcoxilo; es, por tanto, un radical orgánico. Su reactividad con los lípidos es intermedia entre el radical peroxilo e hidroxilo⁴⁶.

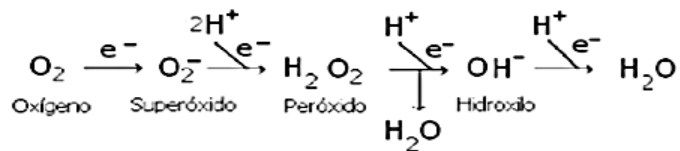


Figura 7. Reducción del oxígeno⁴⁶.

En lípidos, la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados se realiza en tres etapas: **Inicio:** con la participación del radical libre sobre el doble enlace de los ácidos grasos. **Propagación:** caracterizada por la inclusión de un átomo de hidrógeno entre 2 dobles enlaces de los ácidos grasos reacción que ocurre en forma repetida. **Término:** ocurre por interacción

de dos radicales libres generados en la reacción y participación de un agente antioxidante. Los radicales libres pueden ejercer un efecto nocivo sobre los ácidos nucleicos, el ADN puede alterarse como consecuencia de una modificación en las bases nitrogenadas o por ruptura de la cadena polinucleotídica⁴⁴.

2.5. La piel y fotoenvejecimiento

2.5.1. Estructura de la piel

La piel está constituida por tres capas superpuestas (figura 8), de la superficie a la profundidad son: 1) la epidermis; 2) la dermis; y, 3) la hipodermis o tejido graso subcutáneo. Se agrega los siguientes anexos cutáneos: 1) aparato pilosebáceo; 2) glándulas sudoríparas ecrinas; 3) glándulas apocrinas y 4) uñas^{48,49}.

Epidermis es un epitelio plano poliestratificado queratinizado con cuatro capas, que con excepción de la capa basal comprenden cada vez más capas de células. No contiene vasos sanguíneos. El orden de los estratos desde el interior hacia la superficie es el siguiente: 1) estrato basal; 2) estrato espinoso; 3) estrato granuloso; y, 4) estrato córneo (capa córnea). El espesor de la epidermis (incluida la capa córnea) varía según la región cutánea entre 0,04 y 0,4 mm. A nivel funcional se pueden distinguir tres regiones en la epidermis que se renuevan desde la base de modo permanente: 1) Zona proliferativa (estrato basal): renovación celular (denominada epidermopoyesis). 2) Zona de diferenciación (estrato espinoso y granuloso): diferenciación y

maduración celular. 3) Zona funcional (capa córnea): formación de una capa córnea protectora, eliminación celular^{48,49}.

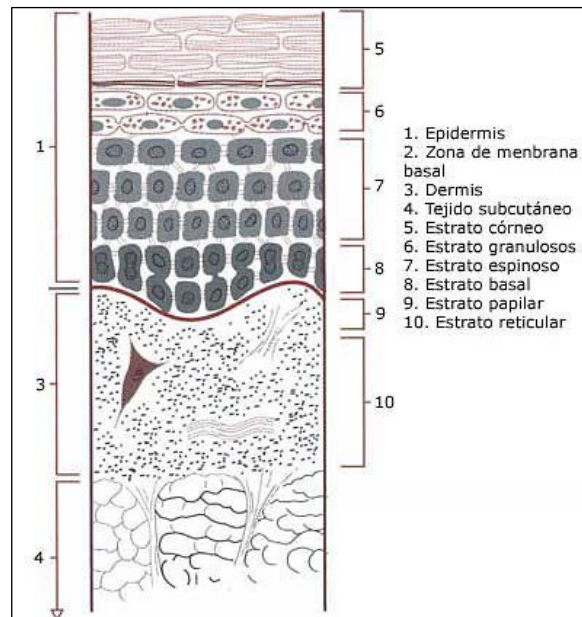


Figura 8. Estructura de la piel⁴⁸.

Dermis conjuntiva se divide en dos estratos. **Estrato capilar:** tejido conjuntivo superficial, delgado y rico en células y vasos. **Estrato reticular:** la capa más profunda y gruesa es rica en fibras. Contiene los anexos cutáneos, los vasos sanguíneos y linfáticos y los nervios. Las células propias del tejido conjuntivo son los fibroblastos locales, que sintetizan las fibras y la sustancia fundamental.

Las fibras de colágeno representan el elemento más importante de la dermis y le aportan su firmeza mecánica. La síntesis de colágeno se

realiza a nivel intracelular y su organización (fibrillas, fibras), a nivel extracelular igual que su destrucción (colagenasas, proteasas).

Hipodermis es la grasa subcutánea, sirve como almohadilla absorbente de golpes, protegiendo estructuras vitales; manteniendo el calor corporal, al actuar de aislante y de reservorio de energía en caso de ayuno. Es el soporte de vasos sanguíneos y nervios que pasan desde los tejidos subyacentes hacia la dermis. Los folículos pilosos y glándulas sudoríparas se originan en este nivel^{48,49}.

2.5.2. Distribución de antioxidantes en la piel

La radiación UVB y en menor grado UVA inducen varias condiciones patológicas de la piel, incluyendo eritema, edema, hiperplasia, fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis. Para proteger la piel contra el estrés oxidativo, está equipado con un elaborado sistema de sustancias antioxidantes y enzimas que incluye una red de activos antioxidantes redox. Las enzimas antioxidantes como la glutatión reductasa, las peroxidasa, las superóxido dismutasa y la catalasa interactúan con las sustancias antioxidantes de bajo peso molecular como las isoformas de vitamina E, la vitamina C, el glutatión (GSH) y ubiquinol. Recientemente, la presencia de α/γ -tocoferol, ascorbato, urato y glutatión se ha demostrado en el estrato córneo (SC), donde la distribución de antioxidantes no es uniforme, pero sigue un gradiente con mayores concentraciones hacia la superficie de la piel. En comparación con el SC,

los lípidos superficiales contienen alto contenido de α/γ -tocoferol debido a la secreción de vitamina E por las glándulas sebáceas. En general, la parte más externa de la piel, la epidermis, contiene mayores concentraciones de antioxidantes que la dermis. En la fase lipofílica, el α -tocoferol es el antioxidante más prominente, mientras que la vitamina C y GSH tienen la mayor abundancia en el citosol⁵⁰.

2.5.3. Fotoenvejecimiento de la piel

La luz ultravioleta (UV) es una de las radiaciones no ionizantes del espectro electromagnético y se sitúa de 100 – 400 nm longitud de onda, está limitada a la región de longitud de onda corta y casi siempre situada como límite entre el espectro de radiación ionizante (menos de 100 nm) y el no ionizante. Puede estar clasificada en tipo A (315 - 400 nm), tipo B (280 - 315 nm) y C (100 - 280 nm); existen además otras bandas de longitudes de onda utilizadas⁵¹.

El envejecimiento de la piel asociado a la exposición de la radiación UV se conoce como fotoenvejecimiento y se define como la pérdida continua de características presentes en la piel juvenil, incluyendo la elasticidad, la pigmentación, y la pérdida de células madres epidérmicas (Figura 9)⁵².

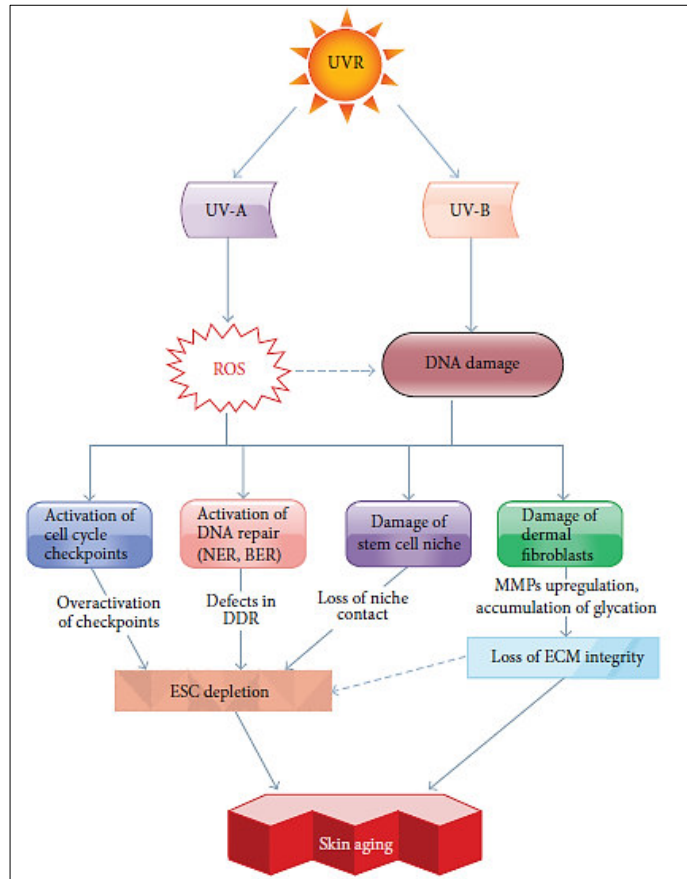


Figura 9. La radiación UV y su efecto de fotoenvejecimiento en la piel. La RUV es el mayor factor de estrés de la piel capaz de dañar el ADN de las células madres epidérmicas (UV-B) o promover la producción de ROS tóxico en el ADN (UV-A). Los efectos dañinos de la RUV resultan en la activación del paro del ciclo celular y proteínas de reparación del ADN, nicho de células madres dañadas y fibroblastos dérmicos. Estos facilitan el agotamiento de células madres epidérmicas y la pérdida de células de la matriz extracelular, lo que lleva al envejecimiento prematuro de la piel⁵².

En los tejidos cutáneos, la irradiación solar UV induce al daño inmediato, produciendo eritema y quemaduras solares, y se cree que es responsable del daño retardado que conduce al envejecimiento prematuro y existe una considerable evidencia de que las especies reactivas de oxígeno están involucradas en algunos de los efectos de la luz UV en las células cutáneas. Dos de los eventos celulares tempranos después de la exposición a la luz UV son la inducción de la peroxidación lipídica y la supresión de la síntesis de replicación del ADN debido al daño del ADN⁵³

En el tratamiento del envejecimiento de la piel, una nueva generación de cosmeceúticos ofrece beneficios clínicos. Los antioxidantes tópicos (retinoides, vitamina C, vitamina E, Coenzima Q10, Silimarina, extracto de granada, etc.) están disponibles, sin receta, en productos para el cuidado de la piel que están dirigidos a prevenir los signos clínicos del fotoenvejecimiento. Los antioxidantes ultrapotentes, los moduladores de células madre y las tecnologías de ADN antisentido están promoviendo nuestra comprensión clínica de los procesos de envejecimiento intrínseco y extrínseco, ofreciendo estrategias dirigidas para frenar o revertir los signos del envejecimiento^{54,55}.

2.6. Crema dermocosmética

El término "Cosmeceútico" es una fusión de los términos "cosmético" y "farmacéutico" y se atribuye al dermatólogo Dr. Albert Kligman (1984),

quien definió un cosmecéutico como un producto cosmético que ejerce un beneficio terapéutico farmacológico, pero no necesariamente un beneficio terapéutico biológico. Los dermocosméticos o Cosmecéuticos⁵⁶ representan una nueva categoría de productos colocados entre los cosméticos y los productos farmacéuticos por lo que no están regulados por la FDA debido a que no alcanzan la definición legal de un fármaco, pero pueden ejercer un tratamiento terapéutico con efectos más allá de los cosméticos simples. Los cosmecéuticos representan el crecimiento más rápido en el segmento del mercado del cuidado de la piel, y una serie de tratamientos cosmeceúticos tópicos para condiciones tales como el fotoenvejecimiento, la hiperpigmentación y las arrugas han llegado ser de uso generalizado^{8,54,57}.

Los cosmecéuticos son utilizados para la nutrición y mejora de la piel y además actúan para evitar y curar diversas condiciones dermatológicas. La razón detrás de esto es ser menos tóxico, ya que consiste en ingredientes a base de hierbas. El estilo de vida de las personas hoy en día causa estrés resultante de diversos problemas dermatológicos como el envejecimiento, las arrugas, la oscuridad de la piel. Estos problemas dermatológicos se tratan mediante el uso de antioxidantes. La fabricación de cosmecéuticos afirma haber demostrado presencia de antioxidantes en la preparación para tratar los problemas de piel por encima^{54,56}.

2.7. Estudios de estabilidad

El estudio de la estabilidad de productos cosméticos proporciona informaciones que indican el grado de estabilidad relativa de un producto en las variadas condiciones a las que pueda estar sujeto desde su fabricación hasta su expiración. Esta estabilidad es relativa, pues varía con el tiempo y en función de factores que aceleran o retardan alteraciones en los parámetros del producto. Durante el estudio de estabilidad se evalúa el **aspecto físico**: donde se debe conservar las propiedades físicas originales como aspecto, color, olor, uniformidad, entre otras; el **aspecto químico**: deben ser mantenidos dentro de los límites especificados para la integridad de la estructura química, el contenido de ingredientes y otros parámetros; y el **aspecto microbiológico**: en la cual deben ser conservadas las características microbiológicas, conforme los requisitos especificados. El cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación y los sistemas conservantes utilizados en la formulación que puedan garantizar estas características. Parámetros de evaluación en la estabilidad de manera general se consideran⁵⁸:

Parámetros Organolépticos: aspecto, color, olor y sabor, cuando sea aplicable. **Parámetros Físico-Químicos**: valor de pH, viscosidad, densidad, y en algunos casos, el monitoreo de ingredientes de la formulación. **Parámetros Microbiológicos**: conteo microbiano y prueba de desafío del sistema conservante (Challenge Test).

Antes de iniciar los estudios de estabilidad, se recomienda someter al producto a la **prueba de centrifugación**. Se sugiere centrifugar una muestra a 3 000 rpm durante 30 minutos.

2.7.1. Estabilidad preliminar

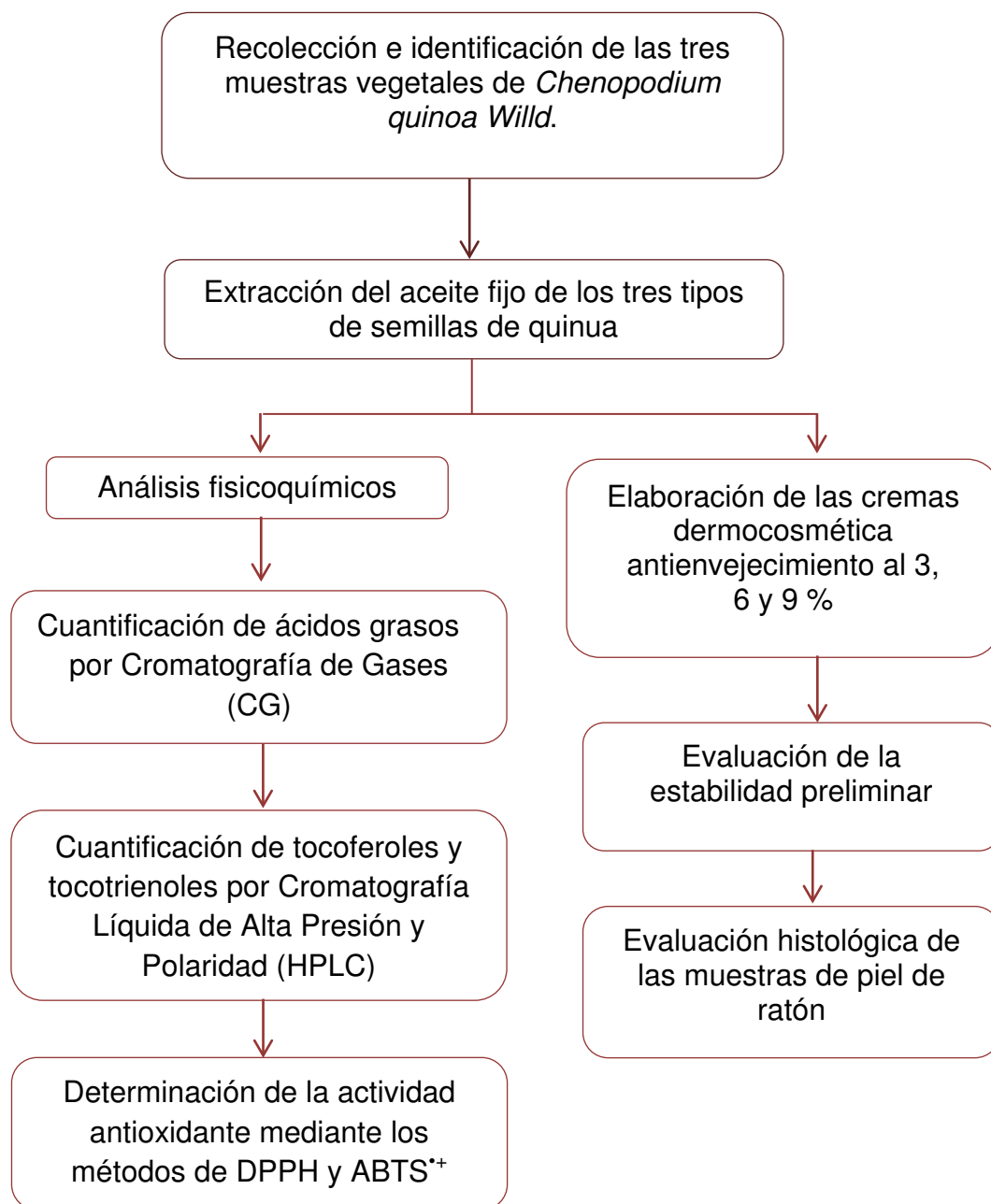
Consiste en la realización de la prueba en la fase inicial del desarrollo del producto, utilizándose diferentes formulaciones de laboratorio y con duración reducida. Emplea condiciones extremas de temperatura con el objetivo de acelerar posibles reacciones entre sus componentes y el surgimiento de señales que deben ser observadas y analizadas conforme las características específicas de cada tipo de producto. Estudio no tiene la finalidad de estimar la vida útil del producto, sino de auxiliar en la selección de las formulaciones⁵⁸.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Tipo de investigación

Experimental, prospectiva, longitudinal y transversal.

3.2. Diseño del trabajo experimental



3.3. Materiales

3.3.1. Materiales, equipos y reactivos (Anexo 2)

3.3.2. Materiales biológicos

a) Muestras de semillas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*)

Las tres muestras de semillas de quinua (blanco, rojo y negro) fueron adquiridas en el anexo Villa Huasapampa, distrito de Anchonga, provincia de Angaraes, región Huancavelica a 3 358 m.s.n.m., ya que, es una localidad que comúnmente se dedican al cultivo de la quinua en sus diferentes variedades. Posteriormente su clasificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

b) Animales de laboratorio

Ratones albinos hembras de la especie *Mus mûsculos*, cepa Balb/c/CNPB, con peso mayor a 25 g, edad 1,5 meses, procedente del Instituto Nacional de Salud - Centro Nacional de Productos Biológicos – Chorrillos (Anexo 1). Los ratones se mantuvieron en condiciones libres de patógenos específicos a temperatura de 23 ± 2 °C y humedad de 50 ± 3 %. La dieta basal convencional fue de ratonina.

3.4. Métodos

3.4.1. Extracción de los aceites de quinua

3.4.1.1. Método Soxhlet

La grasa cruda se extrajo de las semillas molidas en un aparato de extracción continua tipo Soxhlet. El solvente fue removido del extracto por evaporación y el residuo fue pesado y reportado como grasa. Para ello las semillas molidas cada una por separado se procedieron a su extracción con etanol:éter de petróleo (1:1) como solventes a una temperatura entre 40 y 60 °C por análisis, la evaporación se realiza por rotavapor y la estimación del contenido de grasa es por peso⁵⁹⁻⁶².

3.4.1.2. Método Bligh and Dyer

Los aceites para la cuantificación de ácidos grasos, efecto antioxidante y elaboración de las cremas dermocosméticas se obtuvieron mediante la extracción directa con disolventes orgánicos en frío siguiendo el método Bligh and Dyer que se aplica a muestras de alimentos especialmente para extraer lípidos e identificar por cromatografía de gases y prueba de rancidez. Se basa en la homogenización de alimentos húmedos con metanol y cloroformo en proporciones tales que forman una fase sencilla miscible con el agua en los alimentos, que al adicionar cloroformo y agua se separan en dos fases cuya grasa se encuentra en la capa del cloroformo⁶³.

Las semillas de quinua se molieron cada una por separado y se pasó por una malla N° 40. Posteriormente cada muestra de quinua (100 g) se colocó en un vaso agitador, se adicionó 100 mL de cloroformo grado HPLC, se agitó por 30 segundos, se agregó 200 mL de metanol grado HPLC, se agitó por 120 segundos, se volvió a agregar 100 mL de cloroformo grado HPLC, para luego agitar por 30 segundos finalmente se adicionó 100 mL de agua, se agitó nuevamente por 30 segundos, se dejó en reposo y se filtró al vacío. El filtrado se pasó a una pera de decantación, se dejó reposar por 15 minutos aproximadamente, se separó la fase clorofórmica pasándolo a través de sulfato de sodio anhidro, se colocó en un balón y se llevó a evaporar en rotavapor entre 60 y 65 °C. Una vez terminado la evaporación de los restos de reactivos, el aceite se sometió a un ambiente cargado de nitrógeno, para evitar su oxidación, y para su posterior uso se almacenó en frascos ámbar herméticamente cerrados y refrigerados.

3.4.2. Ensayos preliminares

Prueba de solubilidad

Se usó seis tubos de ensayo y se colocó 30 mg de aceite de *Chenopodium quinoa Willd.* “quinua” y se le agregó a cada uno 1 mL de solvente: n-butanol, etanol, metanol, agua destilada, éter de petróleo, n-butanol:etanol (4:0,5). Se agitó y se observó los resultados⁶⁴.

3.4.3. Identificación y cuantificación de ácidos grasos en los aceites de quinua

En el análisis para identificar y cuantificar los ácidos grasos en los aceites de quinua, los triglicéridos y fosfolípidos fueron saponificados y metilados a la vez por reacción de las soluciones NaOH 2N y HCl 2N en metanol respectivamente. Los ácidos grasos metilados son inyectados al cromatógrafo de gases con un detector de ionización de flama de hidrogeno y una columna capilar Supercowax- 10 de sílica fundida marca Supelco de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μ m de grosor donde son separados al ser arrastrados por el hidrógeno de la fase estacionaria de la columna. Se utilizó un cromatógrafo de gases PERKIN ELMER AUTOSYSTEM XL. La temperatura del inyector fue de 250 °C, la temperatura del detector fue de 270 °C, el contenido de cada uno de los ácidos grasos se verificó por comparación con el tiempo de retención de los estándares^{65,66}.

Estos análisis fueron realizados en el Instituto Tecnológico de la Producción, Callao - Perú.

3.4.4. Identificación y cuantificación de tocoferoles y tocotrienoles en los aceites de quinua

La extracción previa del aceite de las semillas se llevó acabo con hexano. Se pesó alrededor de 50 mg de aceite con precisión de 0,1 mg en un matríz aforado de 25 mL y se enrasa con n-hexano. Se pasa por

un filtro pequeño de 0,45 μm (Minisart RC15, Hannover, Alemania) y se inyecta directamente 20 μL en el HPLC (HP 1100 series, Hewlett-Packard, Strasse 8, 76337 Waldrdown, Alemania: G1311^a bomba, G 1316^a horno, G 1313^a ALS inyector) con columna de sílice (5 μ , 250x4, Lichrospher, sil 60 A, 626077-1) y detector de fluorescencia (HP-1100 series FLD G1321 – 95002, Alemania): λ excitación 290 nm., λ emisión 330 nm., fase móvil hexano:isopropanol 99:1 (Flujo 1 ml/min). Temperatura 25 °C. La cuantificación se realizó por curva de calibrado externa con patrón de alfa-tocoferol. Para ello se preparan patrones de α -tocoferol de diferentes concentraciones en n-hexano: 1,145 mg/mL, 2,289 mg/mL, 4,597 mg/mL y 11,447 mg/mL. Se inyectó dos veces cada solución, y representando en una gráfica concentración frente a área, se realiza la recta de calibrado. Para identificar los distintos tipos de tocoferoles, se tiene en cuenta el tiempo de retención cromatográfico de una muestra multipatrón que contiene alfa, beta, gamma y delta-tocoferoles⁶⁷.

Los análisis de identificación y cuantificación de tocoferoles y tocotrienoles se llevaron a cabo en el Instituto de La Grasa, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla - España.

3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante de los aceites de quinua

3.4.5.1. DPPH (2, 2-difenil-1-picrilhidrazil)

El radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) es de coloración violeta; en presencia de una sustancia captadora de radicales libres el compuesto reacciona y se decolora hacia amarillo pálido (Figura 10). La reducción del reactivo es seguida midiendo la disminución de la absorbancia espectrofotométricamente a 517 nm⁶⁸.

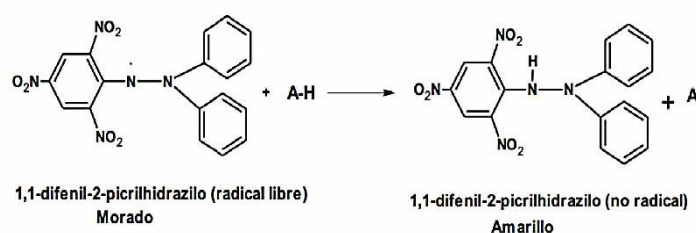


Figura 10. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante⁶⁸.

Para determinar la actividad antioxidante se preparó la solución stock disolviendo 20 mg de DPPH en 50 mL de metanol y se guardó a 4 °C alejado de la luz. Se disolvió el aceite de quinua en una mezcla de n-butanol: etanol absoluto (4:0,5), la solución stock se diluye con metanol hasta obtener una absorbancia de 0,600 – 0,700 a 517 nm y se obtiene la solución trabajo de DPPH. Se calibra el espectrofotómetro con un blanco y se procede a leer las muestras de los aceites de quinua a concentraciones de 530,667; 1 326,667; 2 653,333 y 5 306,667 µg/mL para la solución de quinua blanca; 1 007,5; 2 015; 3 100 y 4 030 µg/mL para la solución del aceite de quinua roja y 596,667; 2 983,333;

4 133,333 y 5 966,667 µg/mL para la solución del aceite de quinua negra. De los cuales para la lectura de las muestras en el espectrofotómetro se tomaron 400 µL de cada muestra y se mezcló con 800 µL de la solución trabajo de DPPH. Se dejó en reposo 30 minutos alejados de la luz y se leyó a 517 nm. Las muestras se analizaron por triplicado. Para la curva de calibración se utilizó concentraciones 0; 1,2; 3,6; 7,2 y 10 µg/mL de Trolox como estándar. El porcentaje inhibición indica la capacidad antioxidante y se determina mediante la siguiente fórmula:

$$(\%) \text{ Inhibición} = [(Abs. DPPH - Abs. muestra)/Abs.DPPH] \times 100$$

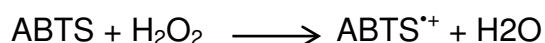
El IC₅₀ corresponde a la concentración en la que se neutraliza el 50 % de los radicales libres del DPPH.

3.4.5.2. ABTS^{•+} (Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6- sulfónico)

Se preparó una solución de ABTS^{•+} 7 mM y posteriormente formar el ion ABTS^{•+}, para ello se agregó persulfato de potasio a una concentración de 2,45 mM (solución stock), se dejó reposar la mezcla a temperatura ambiente y oscuridad por 16 horas. La solución stock se diluye con etanol hasta obtener una absorbancia de $0,700 \pm 0,02$ a 734 nm, y se obtiene la solución de trabajo ABTS^{•+}. Se calibra el espectrofotómetro con un blanco y se procede a leer las muestras de los aceites de quinua: a concentraciones de 84,1; 168,2; 336,4 y 674,4 µg/mL para la solución del aceite de quinua blanca en n-butanol:etanol absoluto (4:0,5); 57,0; 150,0; 300,2 y 600,4 µg/mL para la solución del aceite de quinua roja en el

mismo sistema de solvente, y 76,3; 152,5; 305,0 y 610,0 µg/mL para la solución del aceite de quinua negra en el sistema de solvente ya mencionado. De los cuales se tomaron 20 µL de cada muestra y se mezcló con 980 µL de la solución de trabajo ABTS^{•+}. Se dejaron en reposo a oscuridad por siete minutos y luego se leyó a 734 nm. Las muestras se analizaron por triplicado. Para la curva de calibración se utilizaron concentraciones 0; 1,2; 3,6; 7,2 y 10 µg/mL de Trolox como estándar^{69,70}.

La prueba de barrido ABTS^{•+} se utiliza para determinar la actividad antioxidante (estimando la formación de peróxido) de compuestos hidrófilo e hidrófobo. El ensayo mide la formación de cationes del radical ABTS^{•+} inducida por la metamoglobina y peróxido de hidrógeno. La formación del color del radical ABTS^{•+} es suprimido por la donación de electrones de los antioxidantes, la eliminación de radicales y la inhibición⁷⁰. La cantidad de antioxidante en la muestra de ensayo es inversamente proporcional al desarrollo del radical ABTS^{•+}.



La reacción entre ABTS^{•+} y persulfato de amonio genera directamente el verde-azulado; cromóforo ABTS^{•+}, que puede reducirse, dando por resultado una pérdida de absorbancia a 734 nm. La capacidad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición, calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$(\%) \text{ Inhibición} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}})/A_{\text{control}}] \times 100$$

Los valores de IC₅₀ indican la concentración de muestra requerida para recoger el 50 % de ABTS^{•+} radicales libres. Valores bajos de IC₅₀ indican alta actividad de eliminación de radicales⁷¹. Los resultados también se expresan como valores TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), mg Trolox/g muestra.

Los análisis de DPPH y ABTS^{•+} fueron realizados en el IICFyRN de UNMSM.

3.5. Elaboración de las cremas dermocosméticas

Se elaboró la crema a diferentes concentraciones tal como se indica en la tabla 3:

Tabla 3. Elaboración de las cremas dermocosméticas con aceites de quinua.

Formulación	Aceite de quinua blanca (%)	Aceite de quinua roja (%)	Aceite de quinua negra (%)	Crema base (%)
1	3	-	-	csp 100
2	6	-	-	csp 100
3	9	-	-	csp 100
4		3	-	csp 100
5	-	6	-	csp 100
6	-	9	-	csp 100
7	-	-	3	csp 100
8	-	-	6	csp 100
9	-	-	9	csp 100

Crema base: contiene alcohol cetosteárilico, Esterpol GA, palmitato de isopropilo, benzoato de sodio, EDTA disódico, Carbopol ultrez 21, glicerina, trietanolamina, DowCorning 2051, DowCorning 1501, agua csp 100 %.

Las cremas elaboradas, fuente propia, posteriormente fueron sometidas a estudio de estabilidad preliminar.

3.6. Estudio de estabilidad de las cremas dermocosméticas

El producto debe ser acondicionado en frascos de vidrio neutro, transparente, con tapa hermético. La cantidad del producto no debe superar los dos tercios del volumen del frasco y se debe evitar la incorporación de aire. La duración del estudio es 15 días y favorece en la selección de la formulación. Las formulaciones en prueba son sometidas a condiciones de estrés buscando acelerar el surgimiento de posibles señales de inestabilidad. Generalmente las muestras son sometidas a calentamiento en estufas, enfriamiento en refrigeradores y a ciclos alternados de enfriamiento y calentamiento⁵⁸.

Los valores generalmente adoptados para **temperaturas elevadas** pueden ser: Estufa: $T = 37 \pm 2$, 40 ± 2 , 45 ± 2 y 50 ± 2 °C.

Los valores generalmente adoptados para **bajas temperaturas** pueden ser: Nevera: $T = 5 \pm 2$ °C; congelador: $T = -5 \pm 2$ o -10 ± 2 °C.

Los valores generalmente adoptados para los **ciclos** son:

- 24 horas a 40 ± 2 °C, y 24 horas a 4 ± 2 °C - durante cuatro semanas.
- 24 horas a 45 ± 2 °C y 24 horas a -5 ± 2 °C – durante 15 días (6 ciclos).

- 24 horas a 50 ± 2 °C y 24 horas a -5 ± 2 °C – durante 15 días (6 ciclos).

3.6.1. Prueba de Centrifugación

Las cremas elaboradas fueron sometidas a 3 000 rpm durante 30 minutos a condiciones ambientales para verificar si se mantiene estable la formulación o si requiere una nueva reformulación antes de iniciar con la prueba de estabilidad preliminar⁵⁸.

3.6.2. Condiciones de estabilidad preliminar

Una vez pasadas las pruebas de centrifugación las cremas se sometieron a las condiciones señaladas en la Tabla 4⁵⁸.

Tabla 4. Condiciones de temperatura a las que se sometieron las cremas y periodo de evaluación para la estabilidad preliminar.

Temperatura		Periodo de evaluación
Elevada	40 ± 2 ° C	15 días
Bajas	5 ± 2 ° C	15 días
Ciclos de 24 horas	40 ± 2 ° C y 4 ± 2 ° C	28 días

3.6.3. Evaluación de las características organolépticas

Se evaluó: aspecto, color, olor y sensación al tacto de cada muestra cada 24 horas, las características observadas y percibidas fueron comparadas con la muestra patrón de las cremas que se almacenó a temperatura ambiente protegido de la luz⁵⁸.

3.6.4. Evaluación del pH

Se evaluó el valor de pH mediante la determinación colorimétrica a las soluciones de las muestras de crema con aceites de quinua blanca, roja, negra^{58,72,73}.

3.6.5. Evaluación de la extensibilidad

La extensibilidad de las muestras se evaluó de la siguiente manera: Se tomó un gramo de la crema con aceite de quinua, se colocó sobre una lámina de vidrio (20x20 cm y papel milimetrado) y se cubrió con otra lámina de vidrio (20x20 cm) transparentes en ambos casos, sobre esta se colocó un peso conocido (1000 g) durante un minuto. Pasado el minuto se anotaron los valores de los dos diámetros y se calculó por triplicado mediante la siguiente fórmula⁷³⁻⁷⁵.

$$S_i = d^2 \times \frac{\pi}{4}$$

Donde S_i es el área de expansión (mm^2) resultante de la masa aplicada i (g) y d es el diámetro medio (mm) alcanzado por la muestra.

3.6.6. Evaluación Microbiológico

La evaluación microbiológica de las muestras fue realizada por el Método de Recuento en Placa⁷⁶. Se llevó acabo en el Centro de Control Analítico (CENPROFARMA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

3.7. Ensayo antienvjecimiento de las cremas dermocsméticas

Para este ensayo los ratones fueron separados en 13 grupos; cada grupo constó de cinco ratones como se indica en la tabla 5.

Tabla 5. Grupos de distribución de las muestras para la evaluación antienvjecimiento.

Grupo	Denominación	Crema a evaluar	Observación
1	C.Q.B 3 %	Crema de quinua blanca 3 %	Depilados e irradiados.
2	C.Q.B 6 %	Crema de quinua blanca 6 %	Depilados e irradiados.
3	C.Q.B 9 %	Crema de quinua blanca 9 %	Depilados e irradiados.
4	C.Q.R 3 %	Crema de quinua roja 3 %	Depilados e irradiados.
5	C.Q.R 6 %	Crema de quinua roja 6 %	Depilados e irradiados.
6	C.Q.R 9 %	Crema de quinua roja 9 %	Depilados e irradiados.
7	C.Q.N 3 %	Crema de quinua negra 3 %	Depilados e irradiados.
8	C.Q.N 6 %	Crema de quinua negra 6 %	Depilados e irradiados.
9	C.Q.N 9 %	Crema de quinua negra 9 %	Depilados e irradiados.
10	Patrón	Crema Comercial	Depilados e irradiados.
11	Control (1)	Crema base	Depilados e irradiados.
12	Control (2)	Sin crema	Depilados e irradiados.
13	Blanco	Sin crema	Depilados sin irradiar.

El procedimiento de este ensayo se realizó según el método de exposición a radiación UVA y UVB de ratones sin pelo^{52,77,78}. Antes de exponer a los ratones a radiación UVA y UVB, se depilaron cuidadosamente y se

dejaron acondicionar 48 horas. Después de su acondicionamiento a los ratones se les aplicó las cremas de ensayo, la crema patrón y la crema base (400 mg/ piel dorsal del ratón) dos veces al día durante siete días seguidos. La radiación era proporcionada por cuatro lámparas ultravioleta (Modelo UVL-B-40 2X20W/220V/60Hz) con longitudes de onda entre 290 y 390 nm, en un ambiente cerrado, cubierto por malla metálica y vidrio. Después de 20 minutos a una distancia de 30 cm, los ratones eran colocados bajo las lámparas (luego de aplicarse los tres tipos de crema de quinua en concentraciones de 3, 6 y 9 %, crema base y crema comercial) y expuestos a la radiación UVA y UVB por un periodo de 30 minutos. Luego eran retirados y llevados a su respectivo ambiente con las condiciones ya mencionadas. Este proceso se repitió dos veces al día durante siete días seguidos para luego sacrificar a los animales y realizar el análisis histológico de la piel.

3.8. Análisis Estadístico

Los resultados de la actividad antioxidante se expresan como valor medio de tres extracciones de cada muestra. Se utiliza el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) para comparar las medias, las diferencias se consideran como significativo si $P < 0,05$. La comparación de los componentes (comparación múltiple) se realizó por la vía de análisis de varianza Post Hoc TUKEY. Todos los análisis estadísticos se realizaron con IBM SPSS Statistics (Versión 24.0).

IV. RESULTADOS

4.1. Extracciones de los aceites de quinua

4.1.1 Extracción mediante Soxhlet

El rendimiento de los aceites (Anexo 3) se muestra en la Tabla 6:

Tabla 6. Rendimiento de los aceites de quinua por el método de Soxhlet.

Muestra	Peso	Solventes	Rendimiento de aceite (%)
Quinua blanca	100 g	etanol 96°:éter de petróleo, 1:1	5,28
Quinua roja	100 g		7,64
Quinua negra	100 g		8,76

4.1.2. Extracción mediante Bligh and Dyer

El rendimiento de los aceites (Anexo 3) se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Rendimiento de los aceites de quinua por el método de Bligh and Dyer.

Muestra	Peso	Solventes	Rendimiento de aceite (%)
Quinua blanca	100 g	metanol:cloroformo 1:1	4,29
Quinua roja	100 g		4,08
Quinua negra	100 g		4,95

4.2. Ensayos preliminares

Prueba de solubilidad

En la tabla 8 se observa los resultados de la solubilidad de los aceites de quinua.

Tabla 8. Prueba de solubilidad del aceite de quinua.

Solvente	Solubilidad
Butanol:etanol (4:0,5)	+++
butanol	++
etanol	++
metanol	++
Éter de petróleo	++
Agua destilada	-

Leyenda: (+++) Altamente soluble; (++) soluble; (-) insoluble.

4.3. Ácidos grasos en los aceites de quinua

La cantidad de ácidos grasos presentes en los tres tipos de aceite de quinua (Anexo 4) se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentaje de ácidos grasos en los aceites de quinua analizados por cromatografía de gases.

Ácidos grasos	Cn:m	Quinua blanca (%)	Quinua roja (%)	Quinua negra (%)
Mirístico	14:00	0,23	0,22	0,12
Palmítico	16:00	10,60	10,79	8,70
Palmitoleico	16:01	0,41	0,25	0,11
Esteárico	18:00	0,49	0,46	0,85
Oleico	18:1 ω -9	21,03	22,03	28,73
Vaccénico	18:1 ω -7	1,40	1,26	0,91
Linoleico	18:2 ω -6	54,02	52,25	48,26
α -linolénico	18:3 ω -3	6,33	8,14	6,97
Araquídico	20:00	0,41	0,38	0,58
Eicosaenoico	18:1 ω -9	1,63	1,44	1,68
Eicosadienoico	20:02	0,15	0,14	0,11
Behémico	22:00	0,71	0,53	0,70
Erúcico	22:1 ω -9	1,84	1,59	1,55
Lignocérico	24:00:00	0,38	0,25	0,22

En los aceites de quinua blanca, roja y negra los ácidos grasos encontrados fueron: saturados 12,82; 12,63 y 11,17 %, monoinsaturados 26,82; 26,58 y 32,98 % y poliinsaturados 60,50; 60,53 y 55,34 % respectivamente. Siendo el ácido linoleico el que se encuentra en mayor concentración en los tres tipos de aceite de quinua, predominando en el aceite de quinua blanca.

4.4. Tocoferoles y tocotrienoles en los aceites de quinua

Los resultados de los análisis (Anexo 4) se observan en las tablas 10 y 11.

Tabla 10. Tocoferoles en los aceites de quinua analizados por HPLC.

Tocoferoles	Quinua blanca (ppm)	Quinua roja (ppm)	Quinua negra (ppm)
α	306	288	146
β	-	-	-
γ	611	663	676
δ	39	49	67

ppm: partes por millón.

Tabla 11. Tocotrienoles en los aceites de quinua analizados por HPLC.

Tocotrienoles	Quinua blanca (ppm)	Quinua roja (ppm)	Quinua negra (ppm)
α	34	42	30
β	-	-	-
γ	-	-	-
δ	-	-	-

ppm: partes por millón.

Los aceites de quinua independientemente a sus análisis sobresalen en: γ y δ -tocoferol para quinua negra, α -tocoferol para quinua blanca y α -tocotrienol para quinua roja.

4.5. Actividad antioxidante de los aceites de quinua

4.5.1. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

En la tabla 12 se muestra los resultados de los ensayos de la actividad antioxidante de los aceites de quinua y Trolox.

Tabla 12. Resultados de la actividad antioxidante de los aceites de quinua y Trolox por el método de DPPH.

Muestras	Concentración (µg/mL)	Inhibición (%) DPPH
Blanco	0	0
Trolox	1,200	10,944
	3,600	32,833
	7,200	65,665
	10,000	88,841
Aceite de quinua blanca	530,667	15,634
	1 326,667	29,816
	2 653,333	47,435
	5 306,667	64,956
Aceite de quinua roja	1,007,500	24,726
	2 015,000	44,492
	3 100,000	59,275
	4 030,000	73,081
Aceite de quinua negra	596,667	23,736
	2 983,333	46,376
	4 133,333	60,368
	5 966,667	82,702

El IC₅₀ fue 3 547,917; 2 575,510 y 3 315,589 µg/ml para el aceite de quinua blanca, roja y negra respectivamente y 5,56 µg/ml para el Trolox (Figuras del 11 – 14).

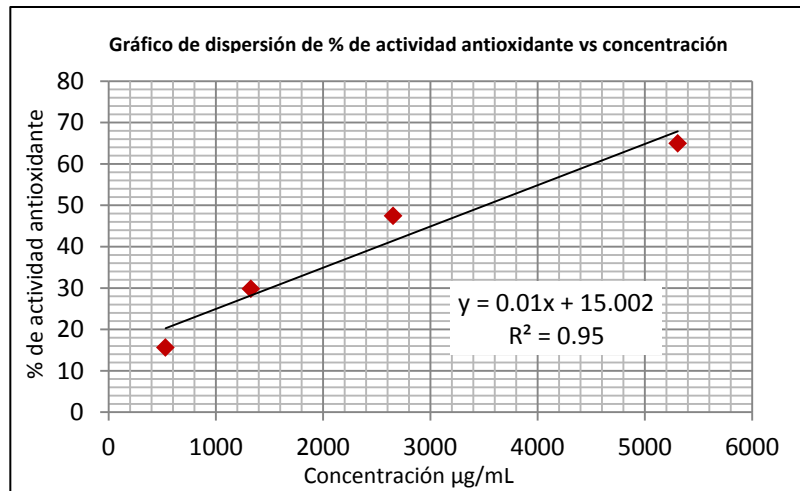


Figura 11. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de actividad antioxidante versus concentraciones del aceite de quinua blanca.

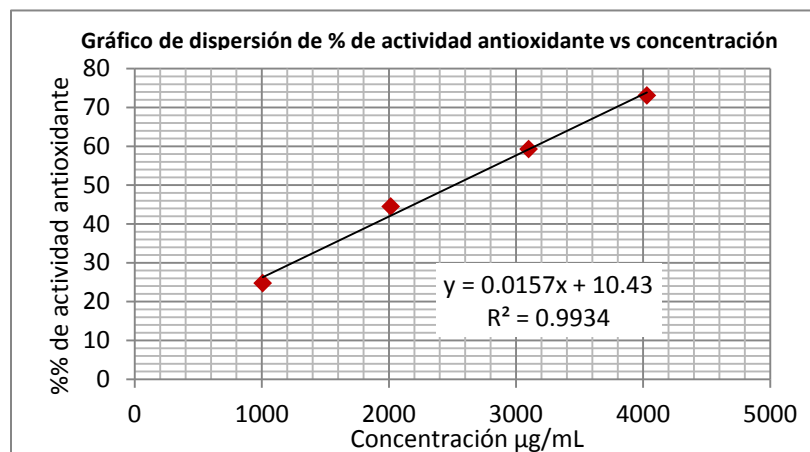


Figura 12. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones del aceite de quinua roja.

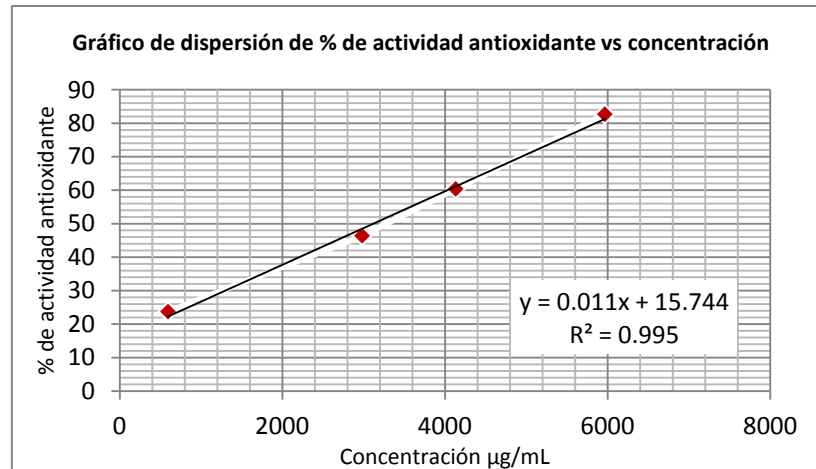


Figura 13. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de actividad antioxidante versus concentraciones del aceite de quinua negra.

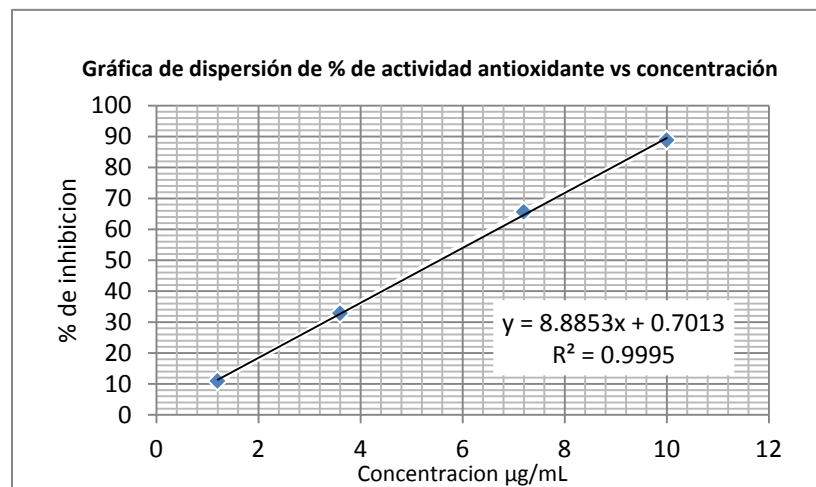


Figura 14. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones de Trolox.

4.5.2. ABTS^{•+} (Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico)

En la tabla 13 se muestra los resultados de los ensayos de la actividad antioxidante de los aceites de quinua y Trolox.

Tabla 13. Resultados de la actividad antioxidante de los aceite de quinua y Trolox por el método ABTS^{•+}.

Muestras	Concentración (µg/mL)	Inhibición (%) ABTS ^{•+}
Blanco	0	0
Trolox	1,200	12,239
	3,600	19,294
	7,200	24,910
	10,000	34,269
Aceite de quinua blanca	84,100	7,669
	168,200	14,030
	336,400	32,500
	674,400	61,140
Aceite de quinua roja	75,000	12,135
	150,000	22,281
	300,200	40,369
	600,400	56,103
Aceite de quinua negra	76,300	10,269
	152,500	20,317
	305,000	31,665
	610,000	59,752

El IC₅₀ fue 532,000; 517,167 y 481,288 µg/mL para el aceite de quinua blanca, roja y negra respectivamente y del Trolox 15,089 µg/mL. El valor TEAC fue 28,362; 29,176 y 31,351 mg Trolox/g muestra para la quinua blanca, roja y negra respectivamente (Figuras del 15 – 18).

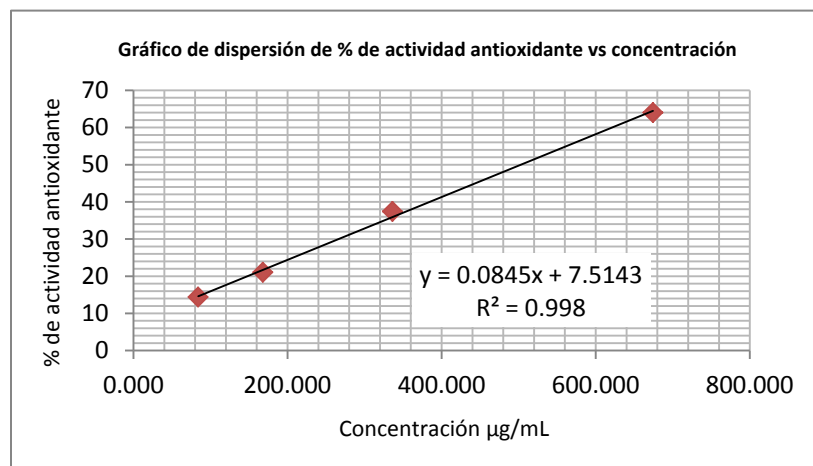


Figura 15. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de actividad antioxidante versus concentraciones del aceite de quinua blanca.

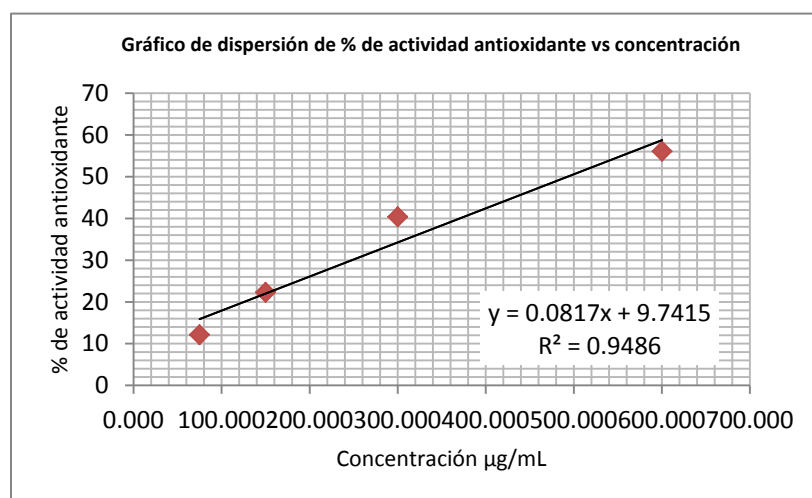


Figura 16. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones del aceite de quinua roja.

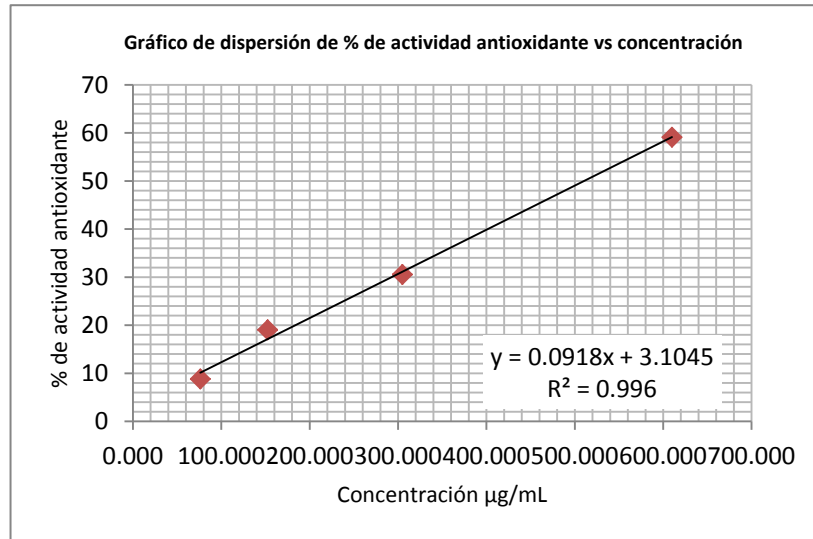


Figura 17. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones del aceite de quinua negra.

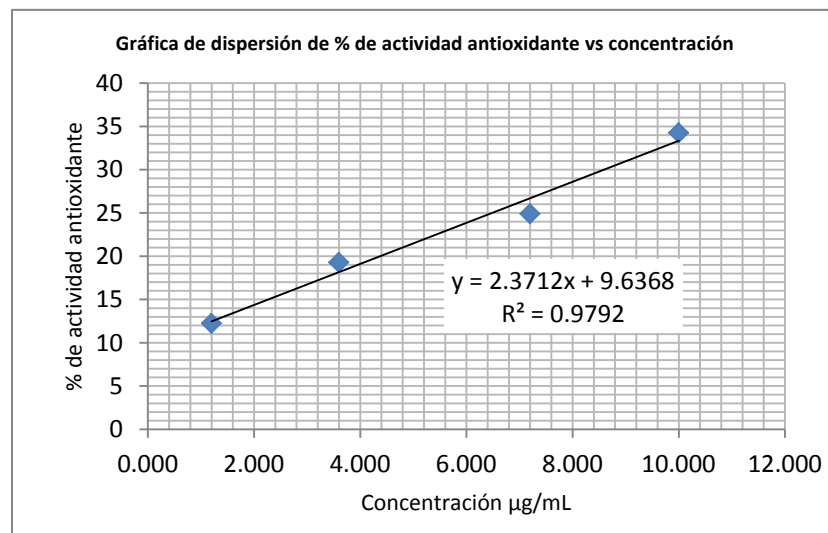


Figura 18. Gráfica de dispersión entre el porcentaje de la actividad antioxidante versus las concentraciones de Trolox.

4.6. Estabilidad preliminar de las cremas dermocosméticas

4.6.1. Evaluación fisicoquímica a 5 ± 2 °C, 40 ± 2 °C y en ciclos de 24

horas (40 ± 2 y 4 ± 2 °C)

Los resultados de la evaluación a las cremas con aceite de quinua (3, 6 y 9 %) se muestran en la tabla 14 (Anexo5).

Tabla 14. Resultados de la estabilidad preliminar de las cremas dermocosméticas a 5 ± 2 °C, 40 ± 2 °C y en ciclos de 24 horas (40 ± 2 y 4 ± 2 °C).

	Determinación	Especificaciones	Resultados												
			$5 \pm 2^{\circ}\text{C}$				$40 \pm 2^{\circ}\text{C}$				ciclos $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$				
			1	5	10	15	1	5	10	15	1	5	10	15	28
			días				días				días				
C.Q.B 3, 6 y 9 %	Aspecto	Homogéneo (sin grumos)	cumple				cumple				cumple				
	Color	blanco-crema													
	Olor	<i>Sui generis</i>													
	pH	6													
C.Q.R. 3, 6 y 9 %	Aspecto	Homogéneo (sin grumos)	cumple				cumple				cumple				
	Color	crema-naranja													
	Olor	<i>Sui generis</i>													
	pH	6													
C.Q.N. 3, 6 y 9 %	Aspecto	Homogéneo (sin grumos)	cumple				cumple				cumple				
	Color	crema-verdoso													
	Olor	<i>Sui generis</i>													
	pH	6													

C.Q.B: crema de quinua blanca, C.Q.R: crema de quinua roja, C.Q.N: crema de quinua negra.

Las cremas dermocosméticas antienvjecimiento con aceite de quinua blanca, roja y negra a 3, 6 y 9 % cumplen con las especificaciones indicadas en la tabla 14.

La extensibilidad evaluado a cada muestra fue 2 789,78 mm²/g en promedio después de uno, cinco, 10, 15 y 28 días.

4.6.2. Ensayo microbiológico de las cremas con aceite de quinua

Los resultados fueron negativos para aerobios mesófilos viables, negativo para mohos y levadura, así como también negativo para *Eschericcha coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus* (tabla 15).

Tabla 15. Análisis microbiológico de las cremas antienvjecimiento con aceites de quinua.

Ensayo	Especificaciones	Método	Resultados
Recuento Total de aerobios mesófilos viables	<10 ³ UFC/g	USP 39	<10 UFC/g
Recuento de mohos y levaduras	<10 ² UFC/g	USP 39	<10 UFC/g
Patógenos			
<i>Escherichia coli</i>	Ausente en 1g	USP 39	Ausente en 1g
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente en 1g	USP 39	Ausente en 1g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente en 25g	USP 39	Ausente en 25g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente en 1g	USP 39	Ausente en 1g

4.7. Determinación del efecto antienviejecimiento

Los resultados obtenidos se observan en la tabla 16.

Tabla 16. Análisis histológico de la piel de ratón (Anexo 6 y 7).

Grupo	Crema	Observación y análisis	
		Macroscópico	Microscópico
1	Patrón	Piel seca y engrosada con arrugas gruesas y finas. Presencia de edema.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conjuntivo normal, escasos edemas.
2	Control (1)	Piel bastante engrosado y seca con abundantes arrugas gruesas y finas	Epidermis gruesa, fino estrato córneo, tejido conectivo disminuido, con edemas.
3	Control (2)	Piel engrosado, ligeramente seca con arrugas gruesas y finas. Presencia de eritema.	Epidermis gruesa, fino estrato córneo, tejido conectivo disminuido, abundantes flictenas.
4	Blanco	Piel delgada, hidratada, sin arrugas	Epidermis delgada, estrato córneo delgado, tejido conectivo intacto, ausencia de edemas.
5	C.Q.B 3 %	Piel ligeramente engrosada, con escasas arrugas finas y eritemas.	Epidermis y estrato córneo delgados, tejido conjuntivo normal, escasos edemas.
6	C.Q.B 6 %	Piel ligeramente engrosada, con escasas arrugas finas.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conjuntivo disminuido, escasos edemas.
7	C.Q.B 9 %	Piel ligeramente engrosada, escasas arrugas finas.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conjuntivo normal.
8	C.Q.R 3 %	Piel ligeramente engrosada, escasas arrugas gruesas y finas, con eritema.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conjuntivo normal, escasos edemas.
9	C.Q.R 6 %	Piel ligeramente engrosada, escasas arrugas finas.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conjuntivo normal, escasos edemas.
10	C.Q.R 9 %	Piel ligeramente engrosada, escasas arrugas finas.	Epidermis ligeramente engrosada, fino estrato córneo, tejido conectivo normal.
11	C.Q.N 3 %	Piel ligeramente engrosada con escasas arrugas finas y eritema.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conectivo normal, con flictenas.
12	C.Q.N 6 %	Piel ligeramente engrosada con escasas arrugas finas.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conectivo normal, con escasos edemas.
13	C.Q.N 9 %	Piel ligeramente engrosada con escasas arrugas finas.	Epidermis delgada, fino estrato córneo, tejido conjuntivo normal.

Patrón: Ratón expuesto a radiación UVA y UVB previa aplicación de la crema comercial Redermic R.

Blanco: Ratón no expuesto a radiación UVA y UVB.

Control 1: Ratón expuesto previa aplicación de crema base.

Control 2: Ratón expuesto a radiación UVA y UVB.

C.Q.B: crema de quinua blanca.

C.Q.R: crema de quinua roja.

C.Q.N: crema de quinua negra.

De los análisis macroscópico y microscópico del efecto antienvjecimiento en la piel de los ratones a las que se les aplicó cremas con aceite de quinua se obtuvo que la crema de quinua roja presentó mejor efecto, seguida de la crema de quinua negra y blanca, además el efecto antienvjecimiento mejora conforme se aumenta la concentración del aceite en la crema.

V. DISCUSIONES

Respecto al rendimiento de extracción de los aceites de quinua por los métodos de Soxhlet y Bligh & Dyer, se obtuvo en promedio 7,23 y 4,44 % respectivamente, encontrando que el aceite de quinua negra para ambos métodos presentó mayor rendimiento y menor viscosidad.

Estudios realizados en aceites de quinuas procedentes de Bolivia y Ecuador encontraron un rendimiento de 1,8 – 9,5 % en promedio⁵; mientras que en extracciones de aceites de quinua por Soxhlet provenientes de distintos ecotipos realizados en Chile obtuvieron un rendimiento de 6,1 – 6,5 %⁶; al comparar con nuestros resultados el rendimiento obtenido está dentro del rango 1,8 - 9,5 %, de otro lado en nuestra extracción por Soxhlet obtuvimos un rendimiento de 7,23 % que es superior a lo encontrado en Chile.

La extracción del aceite con solvente orgánico en frío, a tres variedades de quinua (blanca, roja y negra), hechos en China, reportaron un rendimiento entre 6,58 – 7,17 %⁷, mientras que con la extracción con solventes orgánicos en frío (Bligh & Dyer) obtuvimos un rendimiento menor (4,44 %).

El método de extracción Soxhlet es aplicable en muestras de alimentos en general; sin embargo, en la determinación de grasas y aceites no se mide una cantidad absoluta de una sustancia específica, se determina grupos de sustancias con características físicas similares con base a su solubilidad en el solvente. Esta es una de las limitaciones que tiene este método porque los solventes orgánicos tienen la propiedad de disolver no solo las grasas y aceites, sino también otras sustancias orgánicas. En nuestro análisis de extracción, la cantidad de grasa extraída por este método es mayor al extraído

por el método de Bligh and Dyer el cual permite dividir los lípidos de los no lípidos^{60,62}.

En el análisis del contenido de ácidos grasos en los aceites de quinua en promedio fueron: saturados 12,21 %, monoinsaturados 28,79 % y poliinsaturados 58,79 %; de los ácidos grasos monoinsaturados sobresale el oleico, y de los poliinsaturados en linoleico.

En contraste a los ácidos grasos saturados 10,6 - 11,2 %⁶; monoinsaturados 25 - 28,7 %²⁷; 25,3 - 25,8 %⁶ y poliinsaturados 58,3 %²⁷; 63,5 - 63,8 %⁶ de la quinua, nuestros valores fueron mayores respecto a los saturados e insaturados y para los poliinsaturados presentaron un valor intermedio a los mencionados.

El contenido de ácidos grasos analizado en los aceites de los tres tipos de quinua fueron: saturados 12,82; 12,63 y 11,17 %; monoinsaturados 26,82; 26,58 y 32,98 % y poliinsaturados 60,50; 60,53 y 55,34 % para quinua blanca, roja y negra respectivamente; sin embargo, en la quinua de las montañas de América del sur se reportó ácidos grasos saturados 10,75; 11,09 y 10,52 %, monoinsaturados 31,54; 33,29 y 29,88 % y poliinsaturados 56,02; 54,23 y 58,34 % para la quinua blanca, roja y negra respectivamente⁷. Al comparar con nuestros resultados, la quinua blanca y roja presentaron un rendimiento mayor para saturados, poliinsaturados y menor para monoinsaturados y la quinua negra presentó un rendimiento mayor para saturados, moinsaturados y menor para los poliinsaturados.

Los ácidos grasos (oleico y linolénico) se absorben fácilmente en la piel incorporándose a ella para mejorar las funciones esenciales de las células.

Sus componentes permiten atrapar los radicales libres generados por lípidos vulnerables de la piel. Por ello el aceite aplicado tópicamente sólo o en fórmulas dermocosméticas afirma, tonifica, le da suavidad y textura a la piel⁷⁹.

En el análisis por HPLC de los aceites de quinua en promedio provenientes de la región de Huancavelica se cuantificaron: 246,67 ppm de α -tocoferol; 650 ppm de γ -tocoferol; 51,67 ppm de δ -tocoferol y 35,33 ppm de α -tocotrienol.

Los tocoferoles reportados por investigaciones realizadas en aceite de quinua fueron: α -tocoferol 396 – 933 ppm⁶, 773,8 ppm¹⁴; β -tocoferol 7 – 51 ppm, γ -tocoferol 264 – 435 ppm y δ -tocoferol 8 – 10 ppm⁶.

Respecto al contenido de α -tocoferol nuestros aceites presentaron concentraciones menores, ausencia de β -tocoferol, mayor concentración de γ , δ -tocoferol y presencia de α -tocotrienoles.

La quinua proveniente de Canadá refiere 17,5 $\mu\text{g/g}$ de α -tocoferol, 4,8 $\mu\text{g/g}$ de β -Tocoferol, 47,2 $\mu\text{g/g}$ de γ -tocoferol y 2,3 $\mu\text{g/g}$ de δ -tocoferol; y ausencia de tocotrienoles tanto para la quinua, amaranto y trigo sarraceno¹⁵. Sin embargo, nuestros resultados presentaron mayor cantidad de tocoferoles, y la presencia de α -tocotrienol para los aceites de quinua.

En los aceites de las semillas de quinua provenientes de la región de Huancavelica se cuantificó: 306, 288 y 146 ppm de α -tocoferol; 611, 663 y 676 ppm de γ -tocoferol, 39, 49 y 67 de δ -tocoferol y 34, 42 y 30 ppm de α -tocotrienol para las quinuas blanca, roja y negra respectivamente.

Recientemente se analizaron tres variedades de quinua en la que reportaron la presencia de tocoferoles y tocotrienoles en las siguientes concentraciones: 8,97; 8,03 y 8,44 $\mu\text{g/g}$ de α -tocoferol; 0,41; 0,65 y 0,86 $\mu\text{g/g}$ de β -tocoferol;

25,89; 43,51 y 46,9 $\mu\text{g/g}$ de γ -tocoferol, 1,23; 1,82 y 2,14 $\mu\text{g/g}$ de δ -tocoferol, 0,40; 0,51 y 0,62 $\mu\text{g/g}$ de α -tocotrienol y 0,78; 0,82 y 0,86 $\mu\text{g/g}$ de β -tocotrienol para las quinuas blanca, roja y negra respectivamente⁷. Comparando estos resultados con los obtenidos en nuestros análisis, la concentración de tocoferoles es superior para nuestro caso, respecto a los tocotrienoles ellos reportaron dos tipos (α y β) y nuestras muestras solo contiene el tipo α , pero a una concentración superior.

La diferencias encontradas en los reportes sobre tocoferoles y tocotrienoles nos hace suponer que están directamente relacionadas al proceso previo de extracción, a la extracción *in situ* (cada estudio utilizó diferentes solventes o mezclas de solvente, calor u otro proceso requerido según sus objetivos) y al almacenamiento previo a la cuantificación. También el origen geográfico de las muestras usadas en cada estudio fue distinto por lo que las concentraciones de sus componentes bioactivos tendrán concentraciones distintas^{4,14}.

La literatura refiere que los tocoferoles y tocotrienoles presentan estructuras similares, pero la presencia de tres dobles enlaces en la cadena lateral isoprenoide de tocotrienoles confiere diferentes potencias y actividades biológicas entre ellos. También informaron que los tocotrienoles poseían mayor actividad antioxidante que los tocoferoles. Una solución al 5% que contiene TRF (fracción rica en tocotrienol) sobre la piel de ratones sin pelo protege la piel del estrés oxidativo producido por la luz ultravioleta u ozono^{80,81}.

Recientemente han demostrado que el antioxidante α -tocoferol (vitamina E) puede inhibir la peroxidación lipídica inducida por RUV-B *in vitro* y también pueden inhibir la formación de dímeros de timina. Ambas acciones pueden

contribuir a la prevención de la fotocarcinogénesis. Se mostraron que hay un aumento de 30 – 40 % en la hidrólisis de acetato de α -tocoferol al antioxidante activo α -tocoferol en la epidermis de ratón y en sobrenadante homogenizados de epidermis, resultados como estos han llevado a la adición de vitamina E a lociones para la piel y protectores solares; sin embargo, la forma de vitamina E más comúnmente añadido a estos productos es el éster de vitamina E (acetato de α -tocoferol)⁸². Estos aportes nos permiten indicar que la presencia de tocoferoles y tocotrienoles en los aceites de quinua favorece la protección de la piel frente a la radiación UV y el efecto antienvjecimiento.

La actividad antioxidante de la vitamina E protege los ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares de la oxidación y por lo tanto protege las membranas celulares de la destrucción por los radicales libres de oxígeno. El alfa-tocoferol junto con la vitamina C y el glutatión protegen la piel del daño oxidativo que ocurre por la exposición a la luz UV del sol y a las toxinas químicas. Mantener los niveles de tocoferol en la piel mediante fórmulas tópicas ayuda a mantener las formas activas de vitamina C y glutatión en la piel⁵⁵.

La actividad antioxidante fue evaluada mediante dos métodos: captación del radical DPPH y captación del radical ABTS^{•+}. En la evaluación antioxidante por el método DPPH de los aceites de quinua blanca, roja, negra y Trolox se obtuvo un IC₅₀ de 3 547,9; 2 575,5; 3 315,6 y 5,56 μ g/mL respectivamente. Por el método ABTS^{•+} el valor TEAC fue 28,362; 29,176 y 31,351 mg Trolox/g muestra para la quinua blanca, roja y negra respectivamente. El aceite de quinua roja destaca en el ensayo por DPPH y el aceite de quinua negra

destaca en el ensayo por ABTS^{•+}. También debemos indicar, por evidencia propia de los resultados, que el efecto antioxidante de los tres tipos de aceites de quinua no es significativo en comparación con el estándar Trolox.

Estudios realizados en China para evaluar la actividad antioxidante de los compuestos lipófilos en las semillas de quinua blanca, roja y negra mediante DPPH, ORAC y PCL mostró valores de 4 - 8 μmol Equivalente Trolox TE/g muestra y FRAP de 6 – 8 μmol Equivalente de Ácido Ascórbico AAE/g muestra, y concluyeron que la quinua negra mostró mayor actividad antioxidante seguida de la quinua roja y blanca ⁷; sin embargo, en nuestros resultados por DPPH el aceite de quinua blanca, roja y negra mostró 6, 261; 8,625 y 6,699 μmol Equivalente Trolox/g muestra respectivamente, indicando que los valores obtenidos son similares a los reportados en China; pero, el aceite de quinua roja mostró mejor actividad antioxidante seguida de la quinua negra y blanca. Esta diferencia en el reporte de los resultados pueden ser producto del origen geográfico de la muestra, tipo de extracción (diferencia en el uso de solventes), almacenamiento previo al análisis entre otros factores.

En el análisis antioxidante de 16 cultivares de semillas de *Plukenetia volubilis* L. (sacha inchi) evaluaron los aceites por ABTS^{•+} y se obtuvo 11,62 μmol Trolox/g en promedio⁸³, estos resultados muestran que el efecto antioxidante del aceite de “sacha inchi” es menor respecto a lo encontrado en los aceites de quinua (118,383 μmol Trolox/g en promedio) provenientes de Huancavelica; sin embargo las nueces tienen mayor efecto antioxidante (224 μmol Trolox/g).

También analizaron la determinación de la capacidad antioxidante medida por el radical DPPH en la fase hidrofílica en quince muestras de quinua siendo la

de mayor actividad la variedad PIQ031046 (2 400,55 $\mu\text{g Trolox/g}$)⁸⁴; en contraste se obtuvo 1 800,95 $\mu\text{g Trolox/g}$ de muestra en promedio para el análisis de la fase hidrofóbica de las quinua provenientes de Huancavelica.

En semillas de quinua y brotes de quinua evaluaron la capacidad antioxidante, contenido fenólico y vitamina C a diferentes condiciones de almacenamiento. La capacidad antioxidante fue evaluada usando los métodos de Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC) y Capacidad de Absorción del Radical de Oxígeno (ORAC). Estos ensayos revelaron un aumento de 2 y 2,8 veces respectivamente para la capacidad antioxidante en brotes de cuatro días en comparación con las semillas. También el contenido fenólico resultó aproximadamente 2,6 veces más alto que las semillas e indican que el aumento en la capacidad antioxidante está fuertemente asociado a la capacidad fenólica⁸⁵.

Los antioxidantes actúan como antídoto contra el envejecimiento de la piel mediante la extinción de la formación de radicales libres. Muchos antioxidantes ya están disponibles en preparaciones orales y tópicas. Las combinaciones de diversos antioxidantes pueden tener efectos sinérgicos, produciendo formulaciones con mayor eficacia que cualquiera de los compuestos antioxidantes individuales⁵⁵. Estos aportes suman a la importancia que tiene el efecto antioxidante de los aceites de quinua, más si existen efectos sinérgicos con la vitamina C y el glutatión, ya que estos ayudan a reciclar la forma oxidada de vitamina E a su forma protectora activa.

En la evaluación *in vivo* del efecto antienvjecimiento de las cremas dermocosméticas con aceite de quinua (blanca, roja y negra) al (3, 6 y 9 %) se

obtuvo resultados positivos a nivel macroscópico y microscópico. Macroscópicamente la piel de los ratones a las que se administró las cremas de prueba, mostraron buena apariencia (piel débilmente engrosada, con solo arrugas finas y con escasos eritemas) en comparación con el patrón (piel débilmente engrosada y seca, con arrugas finas y gruesas, con edemas), el control 1 (piel bastante engrosada y seca con abundantes arrugas gruesas y finas) y el control 2 (piel engrosada, ligeramente seca con arrugas gruesas y finas; presencia de eritema) y microscópicamente las concentraciones de 6 y 9 % mostraron mejores resultados; observándose la dermis, epidermis y el estrato córneo poco disminuidos.

Hay aspectos del daño solar en la piel que deben considerarse como el espesor, pérdida de agua transepidermal, hiperplasia epidérmica, formación de células por quemadura solar, desarrollo precoz de arrugas, queratosis, léntigos solares, aparición de telangiectasias y alteración íntegra de la barrera cutánea, que a su vez está relacionada con la sequedad de la piel, el envejecimiento de la piel y aumento de la incidencia de dermatitis irritante de contacto. La radiación UV también daña las estructuras responsables de la adhesión de los corneocitos y el funcionamiento de la permeabilidad de la barrera epidérmica, que a su vez alteran los espesores y las mediciones de pérdida de agua transepidermal y aceleran el proceso de descamación. En el análisis de los parámetros histológicos se debieron analizar también los cambios inflamatorios que frecuentemente son cambios histológicos observados en la piel después de la radiación UV a corto plazo de exposición: el engrosamiento de la piel que se produce en respuesta a la proliferación celular en intentar

regenerar el tejido, dando lugar a una compensación tipo hiperplasia, elastosis y la acumulación de colágeno tipo I. Debido a los efectos acumulativos de la RUV sobre la piel, la reparación del daño en el ADN mitocondrial de los fibroblastos se deteriora y conduce a la disminución de colágeno y elastina por lo que en la piel fotoenvejecida la producción de colágeno tipo I y II se reduce en comparación con la piel no expuesta. Es probable que tales cambios en los precursores del colágeno puedan conducir a niveles reducidos y/o alteración de la organización de colágeno fibrilar, y por lo tanto, contribuir a la aparición de arrugas en la piel fotodañada⁸⁶⁻⁸⁹.

La radiación solar UV es el principal factor ambiental que causa daños en la piel, y por consiguiente, el envejecimiento prematuro de la piel. Al evaluar las cremas de quinua (3, 6 y 9 %) en la piel de los ratones y mostrar un efecto antienvjecimiento, se estaría asociando a la capacidad de la vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) de combatir los radicales libres producto de la radiación UV. Las sustancias antioxidantes tienen la capacidad de unirse a los radicales libres y pueden tener importancia en la prevención y/o terapia de diversas enfermedades de la piel, así como en la ralentización del proceso de envejecimiento de la piel. La literatura describe que el acetato de vitamina E protege la piel de los efectos de los rayos UV, ejerce un efecto antiinflamatorio, "hidrata" y suaviza la piel, "previene" la aparición de nuevas arrugas y mejora la microcirculación^{21,82}.

Se ha demostrado la presencia de α/γ -tocoferol, ascorbato, urato y glutatión en el estrato corneo, los lípidos superficiales en comparación con el estrato córneo (no posee distribución uniforme de antioxidantes, sigue una gradiente con

mayor concentración hacia la superficie) contienen alta concentración de α/γ -tocoferol debido a la secreción de vitamina E por las glándulas sebáceas⁵⁰.

Estudios recientes sobre el efecto fotoprotector, reportan que la disminución de los niveles γ -tocoferol se asocia a una activación de la vía de síntesis para el aumento de α -tocoferol³⁸. En consecuencia, el efecto antienviejecimiento que presentaron nuestras cremas con aceites de quinua se asocia a la presencia de tocoferoles, tocotrienoles y ácidos grasos; ya que, al analizar los aceites de quinua se identificó la presencia de estos compuestos químicos.

VI. CONCLUSIONES

- Los aceites de quinua blanca, roja y negra presentaron ácidos grasos saturados 12,82; 12,63 y 11,17 %, monoinsaturados 26,82; 26,58 y 32,98 %, y poliinsaturados 60,50; 60,53 y 55,34 % respectivamente en los análisis por cromatografía de gases.
- Los aceites de quinua blanca, roja y negra presentaron 306, 288 y 146 ppm de α -tocoferol; 611, 663 y 676 ppm de γ -tocoferol, 39, 49 y 67 ppm de δ -tocoferol y 34, 42 y 30 ppm de α -tocotrienol respectivamente en los análisis por HPLC.
- De la evaluación antioxidante, *in vitro*, por los métodos DPPH los aceites de quinua blanca roja y negra mostraron un IC_{50} de 3 547,917; 2 575,510 y 3 315,589 μ g/ml respectivamente y para el ABTS^{•+} el valor TEAC fue 28,362; 29,176 y 31,351 mg Trolox/g para la quinua blanca, roja y negra respectivamente.
- De la evaluación histológica, *in vivo*, la crema con aceite de quinua roja presentó mejor efecto antienvjecimiento, seguida de la quinua negra y blanca, además este efecto mejora conforme se aumenta la concentración del aceite en la crema.

VII. RECOMENDACIONES

- Considerar que para mejores resultados del efecto antienvjecimiento de la crema con aceite de quinua usar un antioxidante como protector de la molécula, como por ejemplo la vitamina C; puesto que, investigaciones proporcionan información de que la vitamina C evita la degradación de la vitamina E como también favorece a su reconstrucción una vez oxidada, a parte tienen efectos sinérgicos.
- Se recomienda trabajar con muestras animales sin pelo, debido a que, permiten llevar a cabo el experimento por más tiempo y se evita dañar la piel producto del depilado.
- Emplear el aceite de quinua, en diversas formulaciones cosméticas y farmacéuticas dado que puede actuar como principio activo o como excipiente.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mujica A, Moscoso G, Zavaleta A, Canahua A, Chura E, Pocco M, et al. Usos Medicinales y Conocimientos Nutracéuticos Ancestrales de la quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) y Parientes silvestres en el Altiplano Peruano. Agro Enfoque. Ago 2015;29(200):10-16.
2. Fundación PROINPA, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. La quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Cochabamba (Bolivia): Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO); 2011.
3. Anstey A. Systemic photoprotection with α -tocopherol (vitamin E) and β -caroteno. Clinical and Experimental Dermatology. 2002;27:170-76.
4. Miranda M, Vega-Gálvez, Uribe E, Lopez J, Martinez E, Rodriguez M, et al. Physico-chemical analysis, antioxidant capacity and vitamins of six ecotypes of chilean quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). Procedia Food Science. 2011;1:1439-46.
5. Koziol M. Quinoa: A Potential New Oil Crop. NewCROP [Serial on the Internet]. 1993 [Consultado 10 feb. 2017]; 1[aprox. 9 p.]. Disponible en: <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/V2-328.html>
6. Rubio Y. Extracción de aceite de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y su caracterización de dos ecotipos provenientes del secano costero de la región VI de Chile [Tesis]. Santiago: Universidad de Chile. Facultad de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química; 2005.

7. Tang Y, Li X, Chen P, Zhang B, Hernandez M, Zhang H, et al. Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa Willd.* Genotypes. Food Chemistry. 2015;174:502-508.
8. Tsai T, Hantash BM. Cosmeceutical Agentes: A Comprehensive Review of the Literature. Clinical Medicine:Dermatology. 2008;1:1-20.
9. Gandarillas H. Genética y origen. In: M. Tapia (ed). Quinoa y Kañiwa, cultivos andinos. Bogotá: CIID, Oficina Regional para América Latina; 1979. p. 45-64.
10. Kokanova-Nediakova Z, Nedialkov PT, Nikolov SD. The Genius *Chenopodium*: Phytochemistry, Ethnopharmacology and Pharmacology. Rev. Phcog. 2009;3(6):280-306.
11. Mujica A, Jacobsen S. La quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*) y sus parientes silvestres. Universidad Mayor de San Andrés. 2006:449-457.
12. Jadoon S, Karim S, Hassan Bin Asad M, Akram M, Khan A, Malik A, et al. Anti-Aging Potential of Phytoextract Loaded-Pharmaceutical Creams for Human Skin Cell Longevity. Oxidative Medicine and Cellular Longevity (OMCL). 2015;1:1-17.
13. Przybylski R, Chauhan G, Eskin N. Characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa*) lipids. ScienceDirect: Food Chemistry [Base de datos en internet]. 1994 [Acceso 2017-01-20]; 51(2):[aprox. 6p]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0308814694902550>
14. Pastor A. Efecto del procesamiento de ácidos grasos, tocoferoles y esteroides en los aceites de la quinua, el chocho, el amaranto y sangorache

- [tesis para optar al grado de Ingeniero Agroindustrial]. Riobamba (Ecuador): Universidad Nacional de Chimborazo; 2013.
15. Álvarez-Jubete L, Holse M, Hansen A, Arendt K, Gallagher E. Impact of Baking on Vitamin E Content of Pseudocereals Amaranth, Quinoa, and Buckwheat. ProQuest Central [Database on the internet]. Sep 2009 [acceso 09-08-2016];86(5):[aprox 5p.]. Disponible en: <http://search.proquest.com/docview/230043927/5F2B2AF9754C47C0PQ/1?accountid=12268>
 16. Nsimba R, Kikuzaki H, Konishi Y. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. *Food Chemistry*. 2008;106:760-65.
 17. Chaitanya K, Lakhtakia R, Taraka M, Lavanya K, Rajesh K, Jayakumar K, et al. The role of antioxidants in human health maintenance: Small molecules with infinite functions. *IJPSR*. 2011;2(6):1395-402.
 18. Chancal D, Swarlata S. Herbal Photoprotective Formulation and their Evaluation. *The Open Natural Products Journal*. 2009;2:71-6.
 19. Zillich O, Schweiggert-Weisz U, Hasenkopf K, Eisner P, Kerscher M. Release and in vitro skin permeation of polyphenols from cosmetic emulsions. *International Journal of Cosmetic Science*. 2013;35(5):491-501.
 20. Antoniou C, Kosmadaki M, Stratigos A, Katsambas A. Photoaging Prevention and Topical Treatments. *Clin Dermatol*. 2010;11(2):95-102.
 21. Augustyniak A, Rotsztein H, Bartnicka E, Budzisz E. Effects of reactive oxygen species on skin photoaging. *Przegl Dermatol*. 2016;103:233-39.

22. Stojiljkovic D, Pavlovic D, Arsic I. Oxidative Stress, Skin Aging and Antioxidant Therapy. *SJMedicine in Nis*. 2014;31(4):207-17.
23. Gómez LR, Eguluz AL. Catálogo del Banco de Germoplasma de Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*). 1a ed. Programa de Cereales y Granos Nativos de la Facultad de Agronomía UNALM, editor. Lima: Punto y Gráfica; 2011.
24. Apaza V, Cáceres G, Estrada R, Pinedo R. Catálogo de variedades comerciales de quinoa en el Perú. Lima (Perú): Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) ; 2013.
25. Biodiversity International. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Descriptores para Quinoa y sus parientes silvestres. Roma: Biodiversity International y FAO; 2013.
26. Alata D, Arpasi K, Escobedo A. Quinoa “Grano de Oro del Peru” Buenas Práctica Agrícola. Lima(Perú): Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI):2013.
27. Abugoch L. Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2009;58:1-31.
28. Peiretti P, Gai F, Tassone S. Fatty acid profile and nutritive values of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) seeds and plants at different growth stages. *Animal Feed Science and Tecnology*. 2013;183:56-61.
29. Tang Y, Li X, Zhang B, Chen P, Liu R, Tsao R. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three

- Chenopodium quinoa* Willd. Genotypes. Food Chemistry [Serie en Internet]. En 2015 [Acceso 05-04-2017];166:[aprox. 9 p]. Disponible en ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614009042>
30. Ahumada A, Ortega A, Chito D, Benítez R. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Will.): un subproducto con alto potencial biológico. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 2016;45(3):438 – 69.
 31. Adderrahim F, Huanatico E, Segura R, Arribas S, Gonzales C, Condezo-Hoyos L. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. Food Chemistry. 2015;183:83-90.
 32. Garrido A, Teijón J, Blanco D, Villaverde C, Mendoza C, Ramirez J. Fundamentos de Bioquímica estructural [libro electrónico]. 2da ed. Madrid: Tébar; 2006. [Consultado: 18 abril 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=avt8LFmp8q4C&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
 33. Nelson D, Cox M. Lehninger principios de Bioquímica. 5ta ed. Barcelona: Ediciones Omega; 2009.
 34. Peña A, Arroyo A, Gomez A, Tapia R. Bioquímica [Libro electrónico]. México: Editorial Limusa; 2004 [Consultado 10-04-2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=EFUP472dyEMC&pg=PA109&dq=lipidos&hl=es&sa=X&sqi=2&redir_esc=y#v=onepage&q=lipidos&f=false
 35. Kuklinski C. Nutrición y Bromatología. Barcelona: Ediciones Omega; 2003.
 36. Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al. Introducción a la Biología Celular. 2da ed. Madrid: Editorial Panamerica; 2006. 119–128.

37. Badui S. Química de los alimentos. 4ta ed. México: Editorial Pearson; 2006. 245–253.
38. Cela J. Regulación de la biosíntesis de la vitamina E y su función en señalización celular en condiciones de estrés abiótico [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Barcelona; 2012.
39. Sayago A, Marín M, Aparicio R, Morales M. Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites*. 2007;58(1):74-86.
40. Ziegler E, Filer L, J, editores. Conocimientos actuales sobre Nutrición. 7ma ed. Washington: Internacional Life Sciences; 1997. [consultado: 18 abril 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=wfY82pBJmfsC&pg=PA139&dq=TOCOFEROLES&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=TOCOFEROLES&f=true
41. Hernández M, et al. Tratado de Nutrición. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 1999. [consultado: 18 abril 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=SQLNJOSZClwC&pg=PA189&dq=TOCOFEROLES&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=TOCOFEROLES&f=false
42. Zorrilla A. El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Rev Cuvana Invest Biomed*. 2002;21(3):178-85.
43. Rodríguez J. Estructura Química y Actividad Antioxidante *in vitro* del Aceite Esencial de *Eryngium foetidum* L. “Siuca culantro” [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2014.

44. Palomino M. Propiedades antioxidantes y prooxidantes de la *Psidium guajava* L. “guayaba” [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2006.
45. Youngson R. Antioxidantes y Radicales libres. Madrid: EDAF; 1994. [consultado: 18 abril 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=SNthxQBeHkUC&printsec=frontcover&dq=radicales+libres&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi9yvP536nSAhWBFZAKHVzJAQEQ6AEIGDAA#v=onepage&q=radicales%20libres&f=false>
46. Campos D, Rufino S, Majul E, Joison A. Bioquímica del estrés oxidativo. Argentina: Lulu; 2010. [consultado: 21 abril 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=QcELAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=bioquimica+del+estres+oxidativo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjl5Kfyoa_TAhXMQyYKHTAaBoQQ6AEIIDA#v=onepage&q=bioquimica%20del%20estres%20oxidativo&f=false
47. Young R. Antioxidantes y Radicales libres. Madrid: EDAF; 1994. [consultado: 18 abril 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=SNthxQBeHkUC&printsec=frontcover&dq=radicales+libres&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi9yvP536nSAhWBFZAKHVzJAQEQ6AEIGDAA#v=onepage&q=radicales%20libres&f=false>
48. Palomino M. Fisiología de la piel. Revista peruana de Dermatología [Revista en Internet]. 2001 [Consultado 18 abril 2017]; 11(2). Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v11_n2/fisio_piel.htm
49. Frederik M, AB., MD. Enfermedades de la piel incluyendo los exantemas para el uso del médico general y estudiantes avanzados. India: B. Jain

Publishers Pvt; 1999. [consultado: 22 abril. 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=Db22rHD5nGsC&printsec=frontcover&dq=enfermedades+de+la+piel&hl=es-419&sa=X&sqi=2&pj=1&ved=0ahUKEwj4i7-7qLFTAhVMRSYKHbE2Bw8Q6AEIIDA#v=onepage&q=enfermedades%20de%20la%20piel&f=false>

50. Packer L, Valacchi G. Antioxidants and the Response of Skin Oxidative Stress: Vitamin E as a Key Indicator. *Skin Pharmacology Appl Skin Physiol.* Set 2002;15(5):282-90.
51. Díaz de Villegas E, Castillo M, Sabatés M, Curbelo. Radiación ultravioleta. Fotoenvejecimiento cutáneo. *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos* [Revista en Internet]. 2016 [Consultado 10 junio 2017]; 3(1). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180020172002>.
52. Panich U, Sittithumcharee G, Rathviboon, Jirawatnotal S. Ultraviolet Radiation-Induced Skin Aging: The Role of DNA Damage and Oxidative Stress in Epidermal Stem Cell Damage Mediated Skin Aging. *Stem Cells International.* 2016:1-14.
53. Lopez-Torres M, Thiele J, Shindo Y, Han D, Packer L. Topical application of α -tocopherol modulates the antioxidant network and diminishes ultraviolet-induced oxidative damage in murine skin. *British Journal of Dermatology.* 1998;138:207-215.
54. Saha R. Cosmeceutical and Herbal Drugs: Practical uses. *UPSR.* 2012;3(1):59-65.
55. Salavkar S, Tamanekar R, Athawale R. Antioxidants in skin ageing - Future of dermatology. *Int J Green Pharm.* 2011;5:161-8.

56. Fernández C, Cordero A, Gonzales L. La dermocosmética. *Acta Bioclínica*. 2012;2(4):11-5
57. Martin K, Glaser D. Cosmeceuticals: the new medicine of beauty. *Mo Med*. 2011;108(1):60-3.
58. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Brasilia: ANVISA; 2005.
59. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 8va ed. Estados Unidos: Editorial A.O.A.C. International; 2005.
60. Nielsen S. Food Analysis [Libro electrónico]. New York: Kluwer Academic; 2003 [Consultado 14-07-2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=8S1QLUsDOwgC&lpg=PA113&ots=0jZfYe90DR&dq=Crude%20Fat%20Determination%20Soxhlet%20Method%20meat%20technology&lr&hl=es&pg=PA127#v=onepage&q=Crude%20Fat%20Determination%20Soxhlet%20Method%20meat%20technology&f=false>
61. Barrial A. Influencia del pH en la Extracción del aislado proteico de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Will) de las variedades blanca Junín y rosada Junín. [Tesis]. Andahuaylas: Universidad Nacional José María Arguedas – Facultad de Ingeniería; 2014.
62. Crude Fat Determination- Soxhlet Method. [Revista on-line]1998 [Consultado 12-07-2017]. Disponible en: <http://www.meatupdate.csiro.au/infosheets/Crude%20Fat%20Determination%20-%20Soxhlet%20Method%20-%201998.pdf>
63. Bligh EG, Dyer W. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem, Physiol*. 1959;37(8):911-17.

64. Chavez J. Estudio fotoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas *Vallea Stipularis* L: F Chuillur en ratas [Tesis Magister]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2006.
65. Skoog D, Crouch S, Holler F. Principios de análisis instrumental. 6ta ed. Mexico: Cengage Learning Editores, 2008.
66. Salas M, Ayala G, Albrecht R. Contenido de EPA y DHA en aceite crudo de pescado producido en el Perú durante el periodo de 1996-2000. *Ciencia y tecnología alimentaria*. Dic 2002;3(5):283-7.
67. Dieffenbacher A, Pocklington W. *Standard Methods for Analysis of Oils, fats and Derivatives*. Oxford: Osney Mead; 1992.
68. Alam Md, Bristi N, Rafiquzzaman Md. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013;21:143-152.
69. Cortes-Penagos C, Cazares-Romero A, Flores-álvarez L, Yahuaca-Juárez B, Padilla-Ramirez J. Actividad antioxidante de cinco variedades de *Psidium guajava* L. *Agroproductividad*. 2016;9(4):41-6.
70. Sheng Z, Ma W, Gao J, Bi Y, Zhang W, Dou H, et al. Antioxidant properties of banana flower of two cultivars in China using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH,) reducing power, 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate (ABTS) and inhibition of lipid peroxidation assays. *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(21):4470-77.
71. Rubalya Valentina R, Neelamegam P. Selective ABTS and DPPH- radical scavenging activity of peroxide from vegetable oils. *International Food Research Journal*. 2015;22(1):289-294.

72. Kaur L, Garg R, Gupta G. Development and Evaluation of Topical Gel of Minoxidil from Different Polymer bases in application of alopecia. *Int Pharmacy and Pharm Sci*. 2010;2(3):43-7.
73. Alvear S. Estudio de Estabilidad Acelerada en Cremas Formuladas con Aceites de frutos de tres especies vegetales: Morete (*Mauritia Flexuosa*), Chonta (*Bactris gasipaes*), Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) [Tesis]. Quito: Universidad Politecnica Salesiana Sede Quito;2012.
74. Russo M, Britto C, Dos Pasos P, Pereira R, Silveira V, Fonseca M, et al. UVA-UVB Photoprotective Activity of Topical Formulations Containing *Morinda citrifolia* Extract. *BioMed Reseach International*. 2014;1:1-10.
75. Juárez JR. Obtención y Purificación de la Manteca de cerdo: diseño y formulación de bases dermocosméticas para la incorporación de extractos vegetales [tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2008.
76. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP NF 2007. Vol. (1). Washintong D.C.; 2007:96-105.
77. Takemura N, Takahashi K, Tanaka H, Ihara Y, Ikemoto A, Fuji Y, et al. Dietary, but not Topical, Alpha-linolenic Acid Suppresses UVB-induced Skin Injury in Hairless Mice when Compared with Linoleic Acid. *Photochemistry and Photobiology*. Dic 2002;76(6):657-63.
78. Yasuoka S, Takata J, Karube Y, Katoh E, Tsuzuki T, Kizu J et al. Topical Application of a Novel, Water-soluble γ -Tocopherol Derivative prevents UV-induced Skin Damage in Mice. *Photochemistry and Photobiology*. 2005;81(4):908-13.

79. Córdova G, Núñez A. Determinación del perfil de ácidos grasos de un aceite extraído de la semilla *Vitis vinífera* (uva negra criolla). [Tesis]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo – Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias; 2015.
80. Musalmah M, Nizrana M, Fairuz A, et al. Comparative Effect of Palm Vitamin E and α -Tocopherol on Healing and Wound Tissue Antioxidant Enzyme Levels in Diabetic Rats. *Scholarly Journals*. 2005;40(6):575-80.
81. Traber M, Rallis M, Podda M, Weber C, Maibach H, Packer L. Penetration and Distribution of α -Tocopherol, α - or γ -Tocotrienols Applied Individually onto Murine Skin. *Lipids*. 1998;33(1):87-91.
82. Kramer-Stickland K, Liebler D. Effect of UVB on Hydrolysis of α -Tocopherol Acetate to α -Tocopherol in Mouse Skin. *J Invest Dermatol*. 1998;3(2):302-7.
83. Zuloeta G. Compuestos fenólicos, tocoferoles, ácidos grasos, carotenoides, fitoesteroles y capacidad antioxidante de 16 cultivares de semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2014.
84. Repo de carrasco R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: quinua (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Rev Soc Quím Perú*. 2008;74(2):85-99.
85. Laus M, Cataldi M, Robbe C, D'Ambrosio T, Amodio M, Colelli G, et al. Antioxidant capacity, phenolic and vitamin C contents of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as affected by sprouting and storage conditions. *Italian Journal of Agronomy*. 2017;12(816):63-8.

86. Russo M, Britto C, Dos Pasos P, Pereira R, Silveira V, Fonseca M, et al. UVA-UVB Photoprotective Activity of Topical Formulations Containing Morinda citrifolia Extract. BioMed Research International. 2014;1:1-10.
87. Alves R, Castro E, Factores intrínsecos y extrínsecos implicados en el envejecimiento cutáneo. Cirugía Plástica Íbero-Latinoamericana. 2013;39(1):89-102.
88. Concepción A, et al. Algunas características de la piel, fotoenvejecimiento y cremas antifotoenvejecimiento. Rev Cuvana Invest Biomed. 2007;26(2):1-5.
89. Davis S, et al. Clothing as protection from ultraviolet radiation: Which fabric is most effective?. International Journal of Dermatology 1997;36:374-79.

Anexo 1: Constancias de identificación botánica de las muestras de quinua y certificado sanitario de los ratones.

Figura 19. Identificación botánica de “quinua blanca” y “quinua roja”.

Figura 20. Identificación botánica de “quinua negra” y certificado sanitario.

97

- **Materiales y equipos**

Beackers, baguetas, tubo de ensayo, placas Petri estériles de vidrio 15 x 100 mm, pipetas estériles de 1, 5 y 10ml, fioles 10ml, matraz Erlenmeyer 500ml, pera de decantación 500mL, matrás Kitasato 500 ml, balón de vidrio, probeta 100ml, viales de borosilicato, algodón, embudo simple, embudo Buchner, gradillas, micropipetas, papel filtro, soporte universal, pinzas, mortero, papel de aluminio, guantes de látex, mascarilla simple, lentes de protección.

Equipo Soxhlet, estufa modelo ODHG-9030, estufa acoplada a un termómetro Labor Muszeripari Muvek (Esztergom) modelo 68-33884, campana extractora CRUMAIR, refrigeradora Samsung Modelo ES21HKLMR, ccentrifuga SMART R17, molino de cuchillas – Moulinex, balanza analítica Mettler Toledo AL204, cromatógrafo de gases PERKIN ELMER AUTOSYSTEM XL, bomba de vacío VAS ÉS FÉMIPARI KTSZ SZEGED, espectrofotómetro Thermo Scientific™ GENESYS 10S UV-Vis Spectrophotometer, lámpara ultravioleta Modelo UVL-B-40 2X20W/220V/60Hz, cocinilla eléctrica, cromatógrafo líquido (HP 1100 series, Hewlett-Packard, Strasse 8, 76337 Waldrdown, Alemania: G1311^a bomba, G 1316^a horno, G 1313^a ALS inyector).

- **Reactivos y materias primas**

Cloroformo (Merck), agua destilada, etanol 96°, metanol grado HPLC (Merck), Butanol (Sigma), DPPH (Aldrich), Trolox ® (Sigma), ABTS (Sigma), suero fisiológico, sulfato de sodio anhidro, éter de petróleo (Merck), hidróxido de sodio, ácido clorhídrico 2N, formol neutro (preparado en el laboratorio), gas nitrógeno, N-hexano, solución de propanol, éter de petróleo, alcohol cetosteárilico, Esterpol GA, palmitato de isopropilo, benzoato de sodio, EDTA disódico, Carbopol Ultrez 21, trietanolamina, glicerina, , Dow Corning 2051, Dow Corning 1501, agua destilada, crema depilatoria, algodón, suero fisiológico, violeta de genciana, crema antienvjecimiento de la marca Redermic.

Anexo 3. Aceites de quinua y cremas dermocosméticas antienvjecimiento.

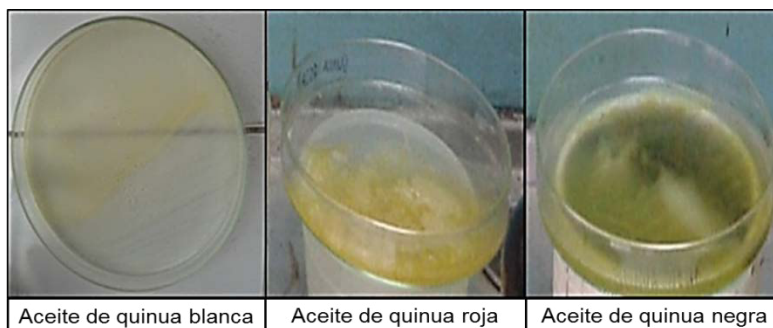


Figura 21. Aceite extraído por el método Soxhlet.

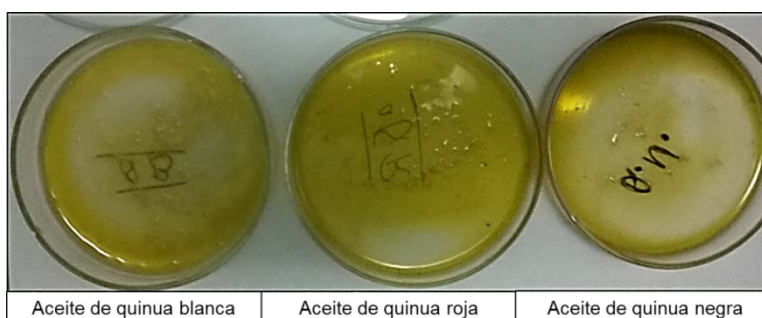


Figura 22. Aceite extraído por el método Bligh & Dyer.

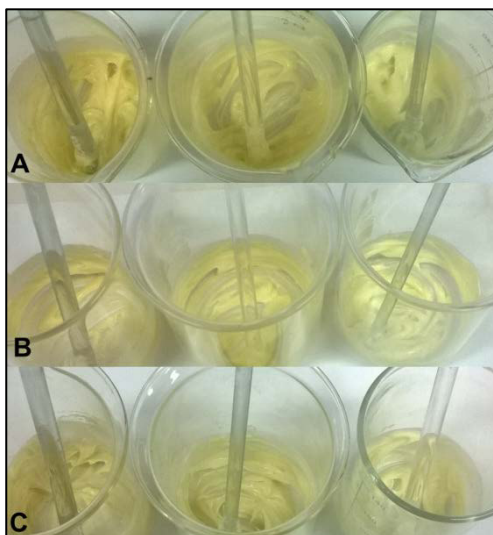


Figura 23. Cremas dermocosméticas. A: Con aceite de quinua blanca al 9, 6 y 3 % de izquierda a derecha. B: con aceite de quinua roja al 9, 6 y 3 % de izquierda a derecha y C: Con aceite de quinua negra al 9, 6 y 3 % de izquierda a derecha.

Anexo 4. Cromatogramas de los ácidos grasos, tocoferoles y tocotrienoles identificados en los aceites de quinua blanca, roja y negra.

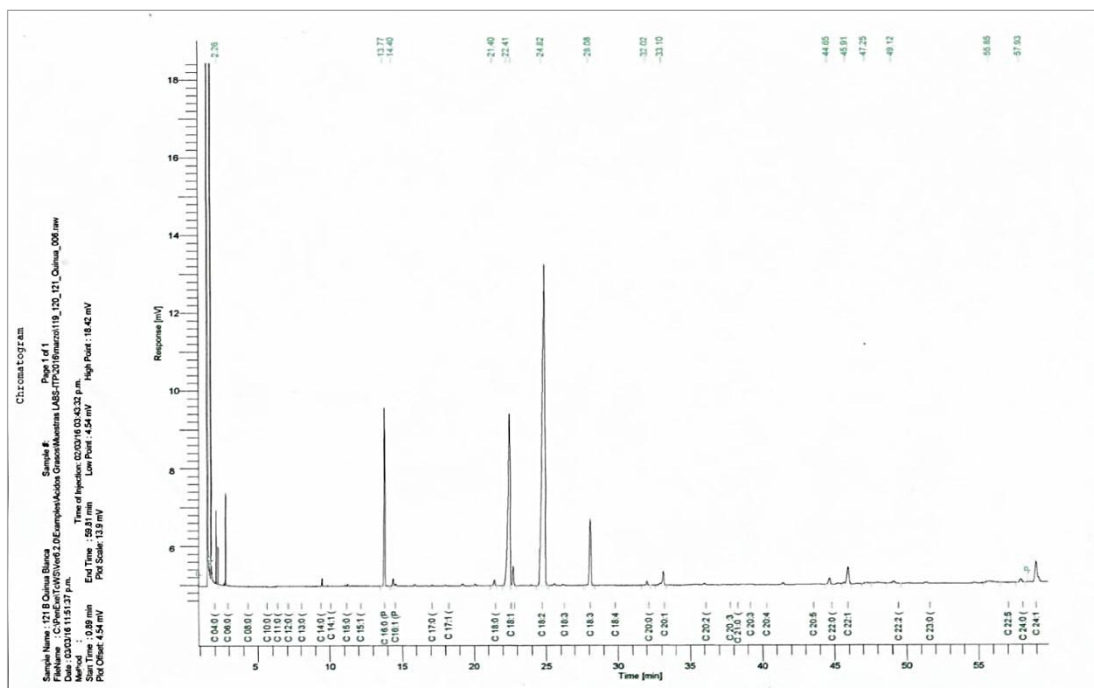


Figura 24. Cromatograma de ácidos grasos del aceite de quinua blanca.

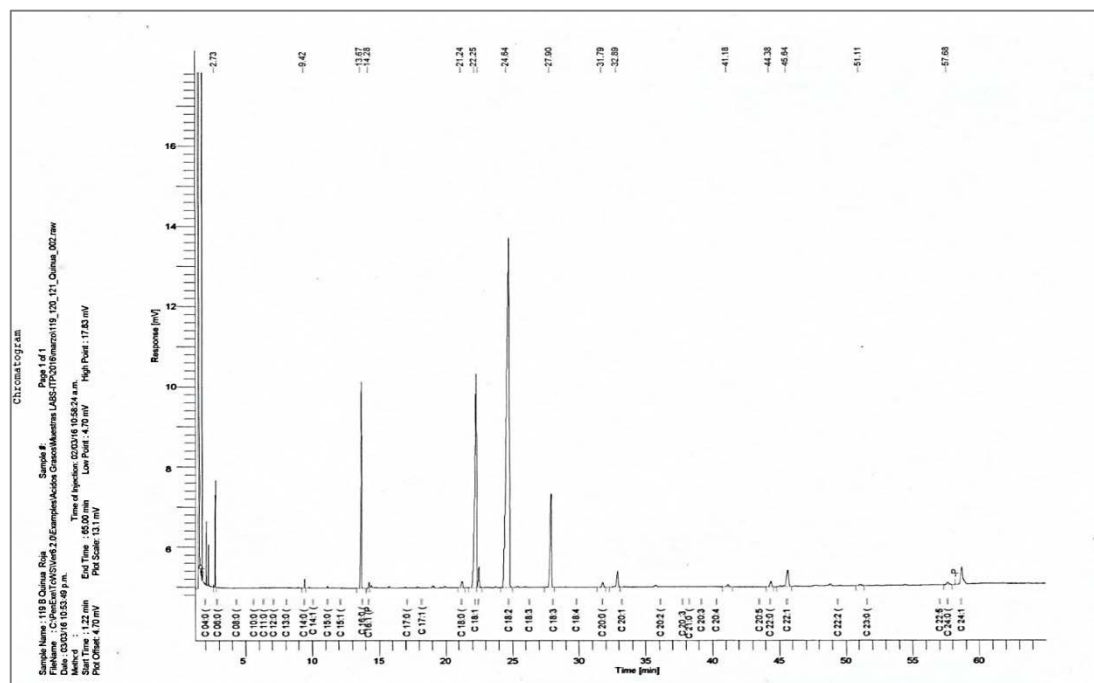


Figura 25. Cromatograma de ácidos grasos del aceite de quinua roja.

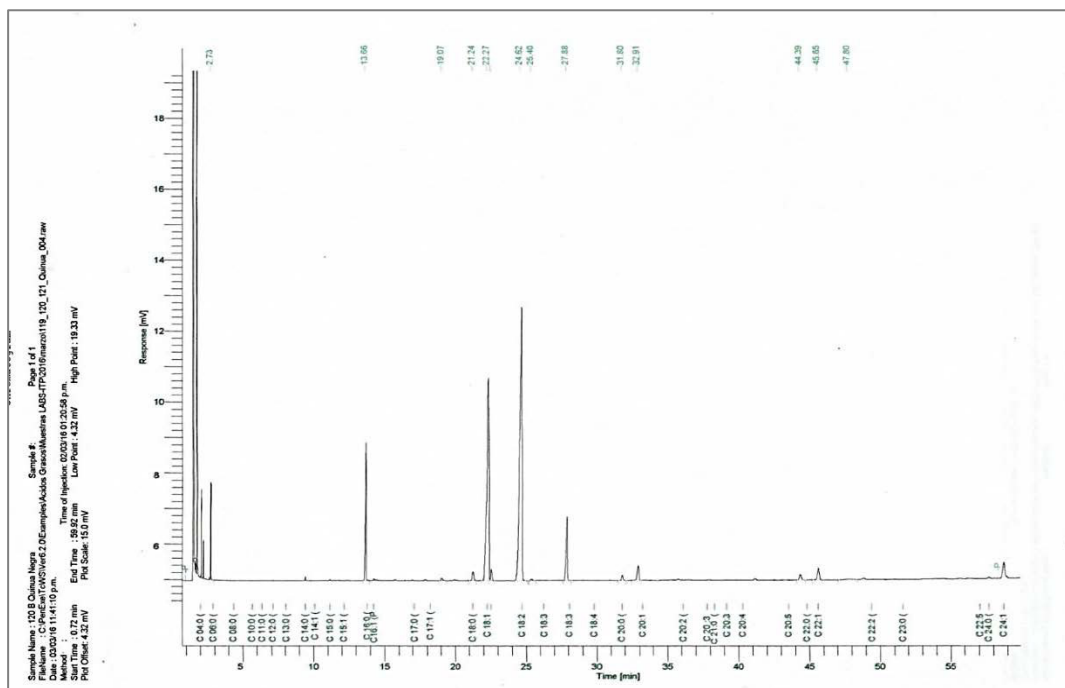


Figura 26. Cromatograma de ácidos grasos del aceite de quinua negra.

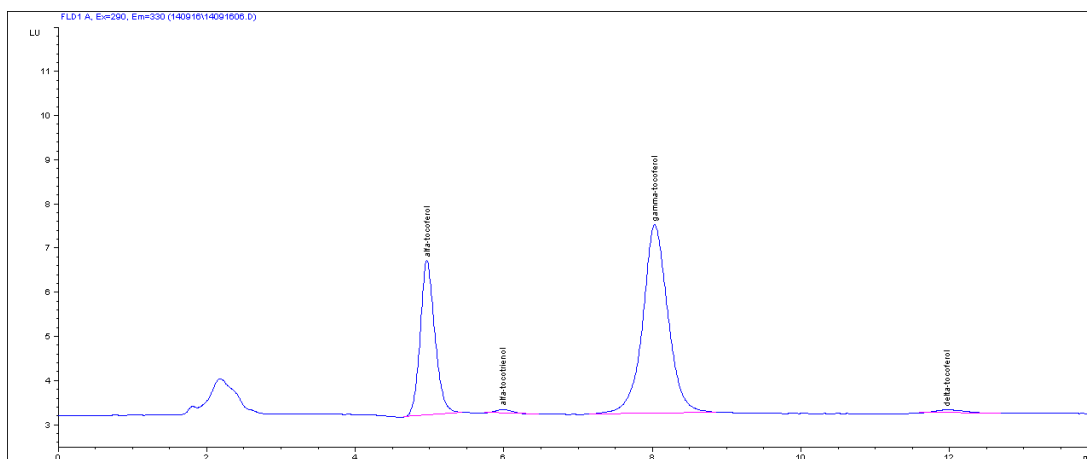


Figura 27. Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles del aceite quinua blanca.

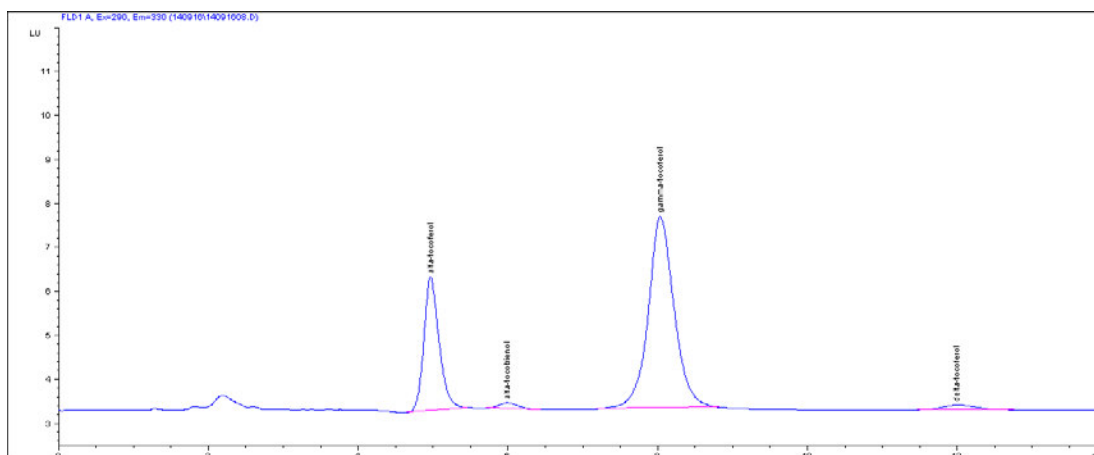


Figura 28. Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles del aceite quinua roja.

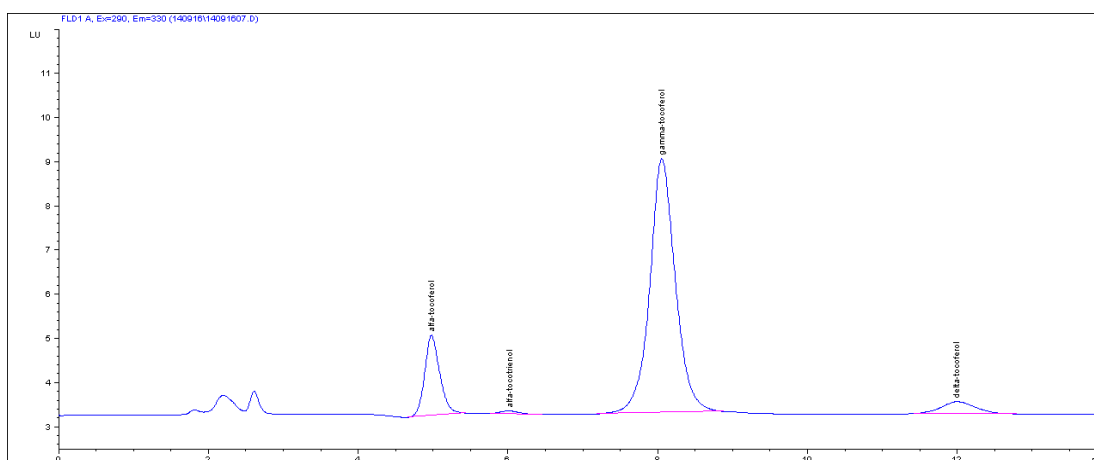


Figura 29. Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles del aceite quinua negra.

Anexo 5. Exposición de los ratones a radiación UVA, UVB y evaluación de algunos parámetros fisicoquímicos de calidad en las cremas elaboradas.



Figura 30. Ratones depilados, aplicación de la crema de quinua y exposición a la radiación UV.

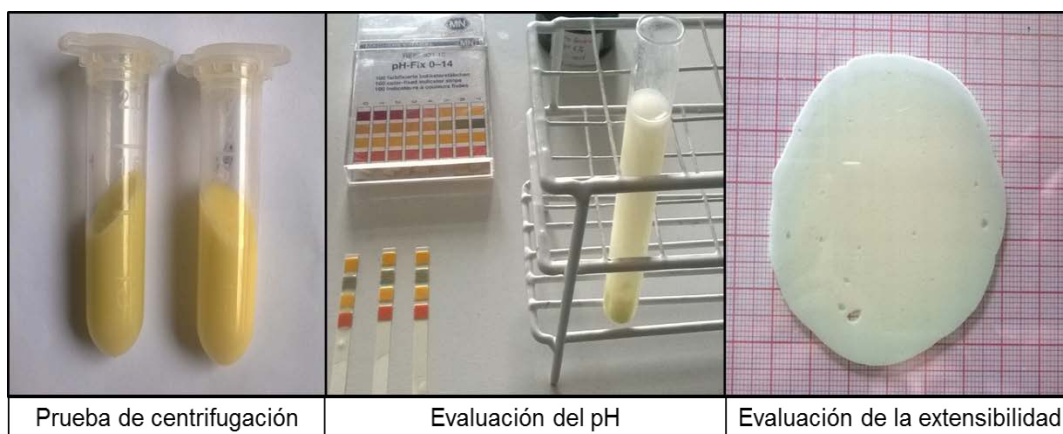


Figura 31. Prueba de centrifugación, evaluación del pH y extensibilidad de las cremas dermocosméticas con aceite de quinua.

Anexo 6. Evaluación macroscópica de la piel de los ratones expuestos a radiación UVA y UVB.



Figura 32. Evaluación macroscópica de la piel sin exposición a RUV, con crema base, con exposición directa a RUV y con crema comercial.

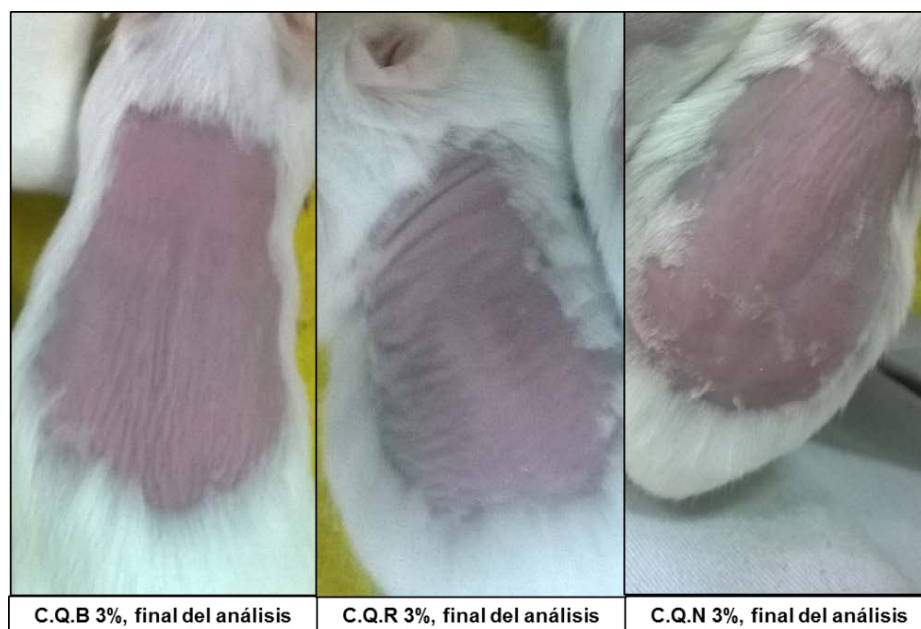


Figura 33. Evaluación macroscópica de la piel tratada con crema de quinua blanca, roja y negra al 3%.

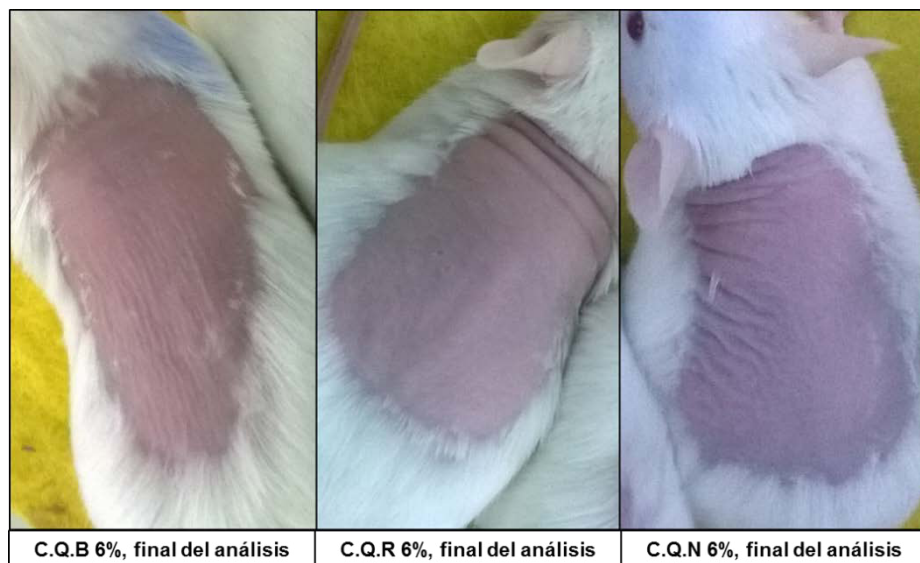


Figura 34. Evaluación macroscópica de la piel tratada con crema de quinua blanca, roja y negra al 6 %.

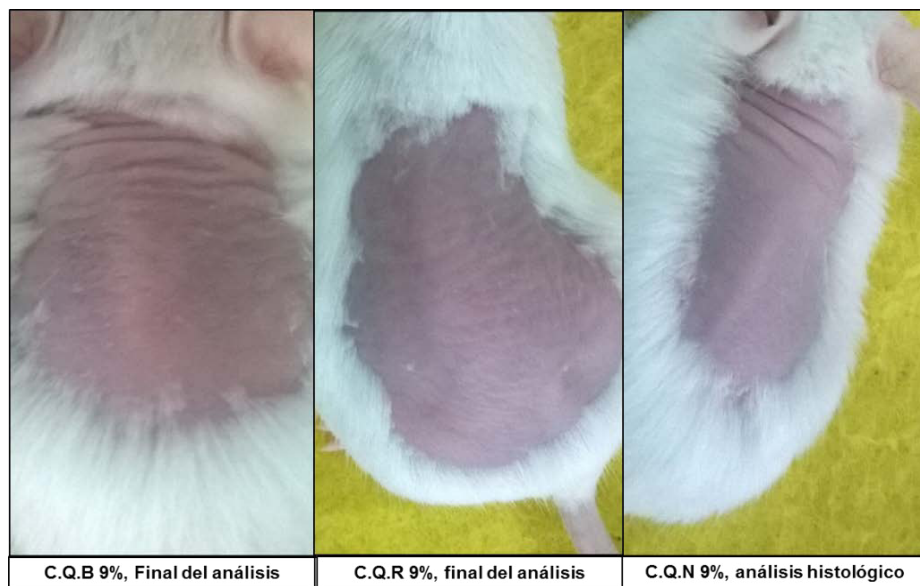


Figura 35. Evaluación macroscópica de la piel tratada con crema de quinua blanca, roja y negra al 9 %.

Anexo 7. Evaluación microscópica de la piel de los ratones expuestos y no expuestos a radiación UVA y UVB.

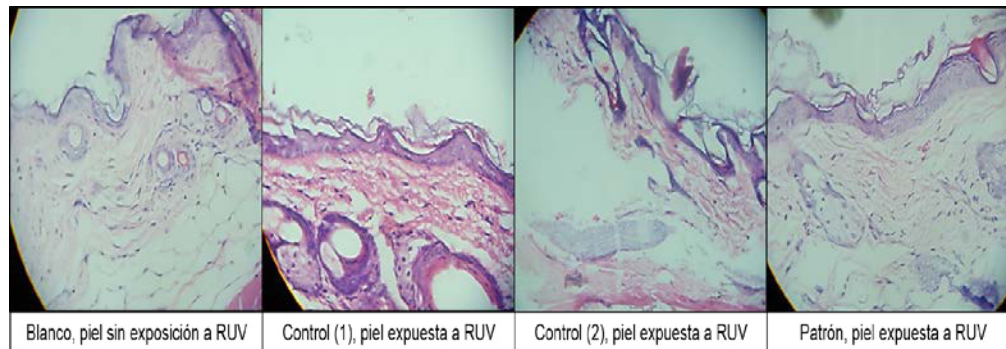


Figura 36. Cortes histológicos de la piel del ratón sin exposición a RUV, con crema base, con exposición directa a RUV y con crema comercial en hematoxilina-eosina 100X.

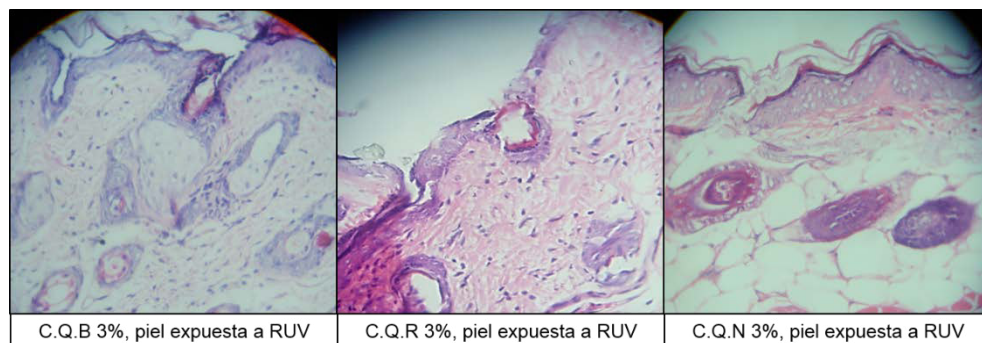


Figura 37. Cortes histológicos de la piel del ratón aplicado la crema de quinua blanca, roja y negra 3 % en hematoxilina-eosina 100X.

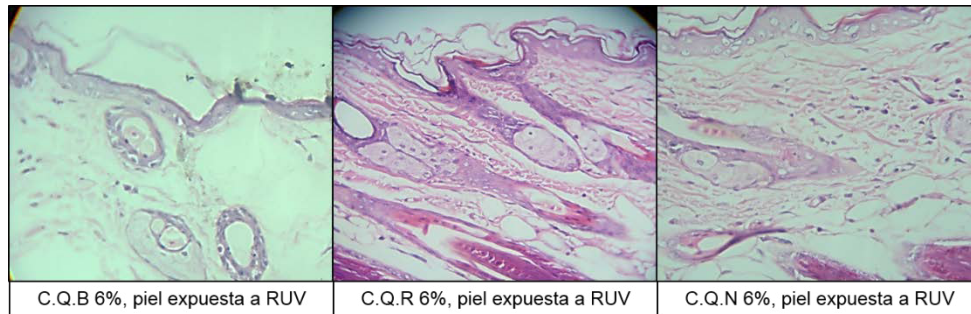


Figura 38. Cortes histológicos de la piel del ratón aplicado la crema de quinua blanca, roja y negra 6 % en hematoxilina-eosina 100X.

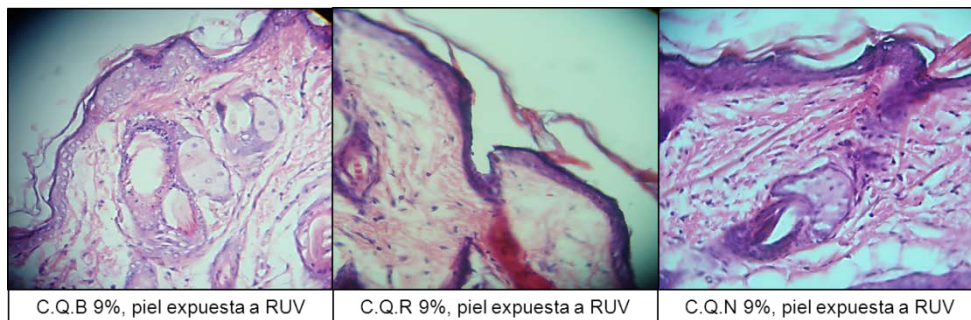


Figura 39. Cortes histológicos de la piel del ratón aplicado la crema de quinua blanca, roja y negra 9 % en hematoxilina-eosina 100X.

Anexo 8. Análisis estadístico de la actividad antioxidante de los aceites de quinua blanca, roja y negra.

Tabla 17. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método DPPH del aceite de quinua blanca.

ANOVA de un factor					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,133	4	,033	268,118	,000
Intra-grupos	,001	10	,000		
Total	,135	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Absorbancias						
HSD de Tukey						
(I) mg/mL	(J) mg/mL	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
,000	,530	,0706667	,0091088	,000	,040689	,100645
	1,327	,1199667	,0091088	,000	,089989	,149945
	2,653	,2020667	,0091088	,000	,172089	,232045
	5,307	,2671000	,0091088	,000	,237122	,297078
,530	,000	-,0706667	,0091088	,000	-,100645	-,040689
	1,327	,0493000	,0091088	,002	,019322	,079278
	2,653	,1314000	,0091088	,000	,101422	,161378
	5,307	,1964333	,0091088	,000	,166455	,226411
1,327	,000	-,1199667	,0091088	,000	-,149945	-,089989
	,530	-,0493000	,0091088	,002	-,079278	-,019322
	2,653	,0821000	,0091088	,000	,052122	,112078
	5,307	,1471333	,0091088	,000	,117155	,177111
2,653	,000	-,2020667	,0091088	,000	-,232045	-,172089
	,530	-,1314000	,0091088	,000	-,161378	-,101422
	1,327	-,0821000	,0091088	,000	-,112078	-,052122
	5,307	,0650333	,0091088	,000	,035055	,095011
5,307	,000	-,2671000	,0091088	,000	-,297078	-,237122
	,530	-,1964333	,0091088	,000	-,226411	-,166455
	1,327	-,1471333	,0091088	,000	-,177111	-,117155
	2,653	-,0650333	,0091088	,000	-,095011	-,035055

* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Tabla 18. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método DPPH del aceite de quinua roja.

ANOVA de un factor					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,175	4	,044	607,961	,000
Intra-grupos	,001	10	,000		
Total	,176	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Absorbancias HSD de Tukey						
(I) mg/mL	(J) mg/mL	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
,000	1,008	,1036333	,0069264	,000	,080838	,126429
	2,015	,1864667	,0069264	,000	,163671	,209262
	3,100	,2485333	,0069264	,000	,225738	,271329
	4,030	,3063667	,0069264	,000	,283571	,329162
1,008	,000	-,1036333	,0069264	,000	-,126429	-,080838
	2,015	,0828333	,0069264	,000	,060038	,105629
	3,100	,1449000	,0069264	,000	,122105	,167695
	4,030	,2027333	,0069264	,000	,179938	,225529
2,015	,000	-,1864667	,0069264	,000	-,209262	-,163671
	1,008	-,0828333	,0069264	,000	-,105629	-,060038
	3,100	,0620667	,0069264	,000	,039271	,084862
	4,030	,1199000	,0069264	,000	,097105	,142695
3,100	,000	-,2485333	,0069264	,000	-,271329	-,225738
	1,008	-,1449000	,0069264	,000	-,167695	-,122105
	2,015	-,0620667	,0069264	,000	-,084862	-,039271
	4,030	,0578333	,0069264	,000	,035038	,080629
4,030	,000	-,3063667	,0069264	,000	-,329162	-,283571
	1,008	-,2027333	,0069264	,000	-,225529	-,179938
	2,015	-,1199000	,0069264	,000	-,142695	-,097105
	3,100	-,0578333	,0069264	,000	-,080629	-,035038

* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Tabla 19. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método DPPH del aceite de quinua negra.

ANOVA de un factor					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,217	4	,054	1138,057	,000
Intra-grupos	,000	10	,000		
Total	,217	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Absorbancias						
HSD de Tukey						
(I) mg/mL	(J) mg/mL	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
,000	,597	,0710000	,0056337	,000	,052459	,089541
	2,983	,1743667	,0056337	,000	,155826	,192908
	4,133	,2383000	,0056337	,000	,219759	,256841
	5,967	,3402667	,0056337	,000	,321726	,358808
,597	,000	-,0710000	,0056337	,000	-,089541	-,052459
	2,983	,1033667	,0056337	,000	,084826	,121908
	4,133	,1673000	,0056337	,000	,148759	,185841
	5,967	,2692667	,0056337	,000	,250726	,287808
2,983	,000	-,1743667	,0056337	,000	-,192908	-,155826
	,597	-,1033667	,0056337	,000	-,121908	-,084826
	4,133	,0639333	,0056337	,000	,045392	,082474
	5,967	,1659000	,0056337	,000	,147359	,184441
4,133	,000	-,2383000	,0056337	,000	-,256841	-,219759
	,597	-,1673000	,0056337	,000	-,185841	-,148759
	2,983	-,0639333	,0056337	,000	-,082474	-,045392
	5,967	,1019667	,0056337	,000	,083426	,120508
5,967	,000	-,3402667	,0056337	,000	-,358808	-,321726
	,597	-,2692667	,0056337	,000	-,287808	-,250726
	2,983	-,1659000	,0056337	,000	-,184441	-,147359
	4,133	-,1019667	,0056337	,000	-,120508	-,083426

* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Tabla 20. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método ABTS⁺⁺ del aceite de quinua blanca.

ANOVA de un factor					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,297	4	,074	239,171	,000
Dentro de grupos	,003	10	,000		
Total	,301	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Absorbancias						
HSD Tukey						
(I) mg/mL	(J) mg/mL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
,000	,084	,0359750	,0152692	,205	-,014277	,086227
	,168	,0833250	,0134661	,001	,039007	,127643
	,336	,1978250	,0134661	,000	,153507	,242143
	,674	,3834250	,0134661	,000	,339107	,427743
,084	,000	-,0359750	,0152692	,205	-,086227	,014277
	,168	,0473500	,0160951	,086	-,005620	,100320
	,336	,1618500	,0160951	,000	,108880	,214820
	,674	,3474500	,0160951	,000	,294480	,400420
,168	,000	-,0833250	,0134661	,001	-,127643	-,039007
	,084	-,0473500	,0160951	,086	-,100320	,005620
	,336	,1145000	,0143959	,000	,067122	,161878
	,674	,3001000	,0143959	,000	,252722	,347478
,336	,000	-,1978250	,0134661	,000	-,242143	-,153507
	,084	-,1618500	,0160951	,000	-,214820	-,108880
	,168	-,1145000	,0143959	,000	-,161878	-,067122
	,674	,1856000	,0143959	,000	,138222	,232978
,674	,000	-,3834250	,0134661	,000	-,427743	-,339107
	,084	-,3474500	,0160951	,000	-,400420	-,294480
	,168	-,3001000	,0143959	,000	-,347478	-,252722
	,336	-,1856000	,0143959	,000	-,232978	-,138222

*La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Tabla 21. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método ABTS⁺⁺ del aceite de quinua roja.

ANOVA de un factor					
Absorbancias					
mg/mL	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,302	4	,076	62,391	,000
Dentro de grupos	,012	10	,001		
Total	,315	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: absorbancias						
HSD Tukey						
(I) mg/mL	(J) mg/mL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
,000	,075	,0957667	,0284228	,044	,002225	,189308
	,150	,1589000	,0284228	,002	,065358	,252442
	,300	,2718667	,0284228	,000	,178325	,365408
	,600	,4095333	,0284228	,000	,315992	,503075
,075	,000	-,0957667	,0284228	,044	-,189308	-,002225
	,150	,0631333	,0284228	,247	-,030408	,156675
	,300	,1761000	,0284228	,001	,082558	,269642
	,600	,3137667	,0284228	,000	,220225	,407308
,150	,000	-,1589000	,0284228	,002	-,252442	-,065358
	,075	-,0631333	,0284228	,247	-,156675	,030408
	,300	,1129667	,0284228	,017	,019425	,206508
	,600	,2506333	,0284228	,000	,157092	,344175
,300	,000	-,2718667	,0284228	,000	-,365408	-,178325
	,075	-,1761000	,0284228	,001	-,269642	-,082558
	,150	-,1129667	,0284228	,017	-,206508	-,019425
	,600	,1376667	,0284228	,005	,044125	,231208
,600	,000	-,4095333	,0284228	,000	-,503075	-,315992
	,075	-,3137667	,0284228	,000	-,407308	-,220225
	,150	-,2506333	,0284228	,000	-,344175	-,157092
	,300	-,1376667	,0284228	,005	-,231208	-,044125

* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.

Tabla 22. Análisis estadístico de la actividad antioxidante por el método ABTS⁺⁺ del aceite de quinua negra.

ANOVA de un factor					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,297	4	,074	278,900	,000
Dentro de grupos	,003	10	,000		
Total	,300	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Absorbancias						
HSD Tukey						
(I) mg/mL	(J) mg/mL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
,000	,076	,0834000 [*]	,0133305	,001	,039528	,127272
	,153	,1443000 [*]	,0133305	,000	,100428	,188172
	,305	,2249000 [*]	,0133305	,000	,181028	,268772
	,610	,4131000 [*]	,0133305	,000	,369228	,456972
,076	,000	-,0834000 [*]	,0133305	,001	-,127272	-,039528
	,153	,0609000 [*]	,0133305	,007	,017028	,104772
	,305	,1415000 [*]	,0133305	,000	,097628	,185372
	,610	,3297000 [*]	,0133305	,000	,285828	,373572
,153	,000	-,1443000 [*]	,0133305	,000	-,188172	-,100428
	,076	-,0609000 [*]	,0133305	,007	-,104772	-,017028
	,305	,0806000 [*]	,0133305	,001	,036728	,124472
	,610	,2688000 [*]	,0133305	,000	,224928	,312672
,305	,000	-,2249000 [*]	,0133305	,000	-,268772	-,181028
	,076	-,1415000 [*]	,0133305	,000	-,185372	-,097628
	,153	-,0806000 [*]	,0133305	,001	-,124472	-,036728
	,610	,1882000 [*]	,0133305	,000	,144328	,232072
,610	,000	-,4131000 [*]	,0133305	,000	-,456972	-,369228
	,076	-,3297000 [*]	,0133305	,000	-,373572	-,285828
	,153	-,2688000 [*]	,0133305	,000	-,312672	-,224928
	,305	-,1882000 [*]	,0133305	,000	-,232072	-,144328

* La diferencia de medias es significativa al nivel 0,05.